

ABREVIATION

- ✓ a : Pente de la droite
- ✓ Ag⁺ : Ions Argent
- ✓ AgCl : Chlorure d'argent
- ✓ ATP : adénosine triphosphate
- ✓ b : Ordonnée à l'origine
- ✓ BR : Blanc réactif
- ✓ C : Concentration
- ✓ Cl⁻: Ions Chlore
- ✓ Ca⁺⁺: Ions Calcium
- ✓ CO₃H⁻ : Ions bicarbonate
- ✓ CNPG3 : 2-chloro-p-nitrophényl-α-D-maltotrioside
- ✓ CNP : 2-chloro-p-nitrophénol
- ✓ G3 : l'α-maltotriose
- ✓ CV : Coefficient de variation
- ✓ ddp: différence de potentiel
- ✓ DIC: déshydratation intracellulaire
- ✓ EC : Echantillon
- ✓ ET: Ecart type
- ✓ HALD : Hôpital Aristide le Dantec
- ✓ HCL: Acide Chlorhydrique
- ✓ HCF : Filtres « Hard Coated »
- ✓ HEC= hyperhydratation extracellulaire
- ✓ Hg(Cl)₂ : Chlorure de mercure
- ✓ Hg(SCN)₂ : Thiocyanate de mercure
- ✓ HTIC : hypertension intracrânienne
- ✓ IC_m : Intervalle de confiance de la moyenne
- ✓ IL: Instrumentation Laboratory
- ✓ K⁺: Ion Potassium
- ✓ LD : Limite de Détection
- ✓ LDH: lactate déshydrogénase
- ✓ Li⁺: Ions lithium
- ✓ LQ : Limite de Quantification
- ✓ m : moyenne des mesures
- ✓ MEC : milieu extracellulaire
- ✓ mEq/l: milliéquivalent par litre
- ✓ Mg⁺⁺ : Ions Magnésium
- ✓ mmol/l: millimole par litre
- ✓ mOsm/l : milliosmole par litre
- ✓ n : nombre de séries

- ✓ Na⁺: Ions Sodium
- ✓ NAD⁺/NADH, H⁺ : Nicotinamide adénine dinucléotide
- ✓ nm : nanomètre
- ✓ Osm: Osmole
- ✓ Osm P : Osmolarité Plasmatique
- ✓ ONPG : O-nitrophényl-β-D-galactopyranoside
- ✓ PEP: Phosphoénolpyruvate
- ✓ PK : pyruvate kinase
- ✓ PREC : Solution de précipitation
- ✓ PVC: Polychlorure de vinyle
- ✓ r : Coefficient de corrélation
- ✓ R-COO⁻ : Protéinates
- ✓ RGT : Réactif de coloration
- ✓ STD : Solution Etalon
- ✓ SCN : Sulfocyanure
- ✓ t : facteur fonction du nombre de degré de liberté et du risque retenu, en général 5 %, défini dans la table de Student
- ✓ TPTZ : Tripyridyl-triazine
- ✓ U-K⁺: potassium urinaire
- ✓ U-Na⁺: Sodium urinaire
- ✓ v : valeur vraie
- ✓ xi : Valeurs des mesures

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Tableau récapitulatif de la répartition des anions et cations dans les compartiments cellulaires.....	8
Tableau II : composition des réactifs Sodium rapid Human.....	32
Tableau III : Mode opératoire du dosage du sodium.....	33
Tableau IV : composition des réactifs Potassium liquirapid de Human.....	34
Tableau V : Mode opératoire du dosage du potassium.....	35
Tableau VI : Résultats des mesures des dilutions pour l'étude du domaine de linéarité du dosage du sodium par la méthode colorimétrique.....	43
Tableau VII : Résultats des mesures des deux spécimens de contrôle Vitros performance verifier pour l'étude de la répétabilité du dosage du sodium par la méthode colorimétrique.....	45
Tableau VIII : Résultats des mesures des deux spécimens de contrôle Vitros performance verifier pour l'étude de la reproductibilité du dosage du sodium par la méthode colorimétrique.....	47
Tableau IX : Evaluation de la justesse des mesures des deux spécimens de contrôle Vitros performance verifier pour le dosage du sodium par la méthode colorimétrique.....	49
Tableau X : Résultats des mesures des dilutions pour l'étude du domaine de linéarité du dosage du potassium par la méthode colorimétrique.....	50
Tableau XI : Résultats des mesures des deux spécimens de contrôle Vitros performance verifier pour l'étude de la répétabilité du dosage du potassium par la méthode colorimétrique.....	52
Tableau XII : Résultats des mesures des deux spécimens de contrôle Vitros performance verifier pour l'étude de la reproductibilité du dosage du potassium par la méthode colorimétrique.....	55
Tableau XIII: Evaluation de la justesse des mesures des deux spécimens de contrôle Vitros performance verifier pour le dosage du potassium par la méthode colorimétrique.....	56

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Répartition des électrolytes suivant le compartiment cellulaire.....	6
Figure 2 : Etiologies des hyponatrémies.....	10
Figure 3 : Etiologies des hyper-natrémies.....	11
Figure 4 : Etiologies des déshydratations extracellulaires.....	17
Figure 5 : Etiologies des déshydratations intracellulaires.....	18
Figure 6 : Schéma de principe d'un photomètre de flamme.....	20
Figure 7 : Schéma de principe de la potentiométrie.....	21
Figure 8 : Schéma de principe d'un coulomètre.....	27
Figure 9 : Courbe d'évaluation du domaine de linéarité de la technique de dosage du sodium par colorimétrie.....	44
Figure 10 (A, B) : Distribution des concentrations des deux spécimens de contrôle Vitros performance verifier pour l'évaluation de la répétabilité de la technique de dosage du sodium par colorimétrie.....	46
Figure 11 (A, B) : Distribution des concentrations des deux spécimens de contrôle Vitros performance verifier pour l'évaluation de la reproductibilité de la technique de dosage du sodium par colorimétrie.....	48
Figure 12 (A, B) : Courbes d'évaluation du domaine de linéarité de la technique de dosage du potassium par colorimétrie.....	51
Figure 13 (A, B) : Distribution des concentrations des deux spécimens de contrôle Vitros performance verifier pour l'évaluation de la répétabilité de la technique de dosage du potassium par colorimétrie.....	53
Figure 14 (A, B) : Distribution des concentrations des deux spécimens de contrôle Vitros performance verifier pour l'évaluation de la reproductibilité de la technique de dosage du potassium par colorimétrie.....	55

SOMMAIRE

INTRODUCTION.....	2
-------------------	---

PREMIERE PARTIE : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

1. IONOGRAMME ET TROUBLES HYDRO ELECTROLYTIQUES.....	5
1.1. Définition et intérêt.....	5
1.2. Rappel sur la physiopathologie des troubles hydro électrolytiques.....	5
1.2.1. Les électrolytes et leur répartition dans les compartiments cellulaires.....	5
1.2.1.1. Le compartiment extracellulaire.....	6
1.2.1.1.1. Le compartiment plasmatique.....	6
1.2.1.1.2. Le compartiment interstitiel.....	7
1.2.1.2. Le compartiment intracellulaire.....	7
1.2.2. La physiopathologie des troubles hydro-électrolytiques.....	8
1.2.2.1. Les troubles électrolytiques.....	8
1.2.2.1.1. Le sodium.....	8
1.2.2.1.2. Le potassium.....	12
1.2.2.1.3. Le chlore.....	14
1.2.2.2. Les troubles de l'hydratation.....	14
1.2.2.2.1. L'Hyperhydratation.....	14
1.2.2.2.2. La Déshydratation.....	16
2. ETUDE DES TECHNIQUES DE DOSAGE DE L'IONOGRAMME.....	19
2.1. Les cations plasmatiques (Na ⁺ et K ⁺).....	19
2.1.1. La photométrie de flamme.....	19
2.1.2. L'électrométrie par électrodes sélectives (Potentiométrie).....	21
2.1.2.1. Traitement de l'échantillon.....	21
2.1.2.2. Traitement des dosages - Module de mesure.....	22
2.1.2.3. Traitement des mesures - Relation entre activité et concentration.....	22
2.1.2.4. Conduite à tenir pratique.....	23
2.1.3. Les techniques enzymatiques.....	23
2.1.3.1. Le sodium.....	23

2.1.3.2. Le potassium	24
2.1.4. La technique colorimétrique.....	24
2.2. Les Anions (Cl-).....	25
2.2.1. Les techniques chimiques.....	25
2.2.1.1. La méthode de SCHALES.....	25
2.2.1.2. La méthode de ZALL.....	25
2.2.1.3. La méthode au TPTZ.....	25
2.2.1.4. La méthode enzymatique.....	26
2.2.2. Les techniques physico-chimiques.....	26
2.2.2.1. La technique coulométrique.....	26
2.2.2.2. Les techniques électrométriques par électrode sélective	27

DEUXIEME PARTIE/ TRAVAIL PERSONNEL

1. JUSTIFICATION ET OBJECTIFS DE L'ETUDE.....	29
1.1. Justification.....	29
1.2. Les objectifs.....	29
1.2.1. Les objectifs généraux.....	29
1.2.2. Les objectifs spécifiques.....	30
2. LA METHODOLOGIE.....	30
2.1. Le type d'étude.....	30
2.2. Le cadre d'étude.....	30
2.3. Les spécimens biologiques.....	30
2.4. Le matériel.....	31
2.5. La méthodologie.....	31
2.5.1. Evaluation des performances analytiques de la méthode colorimétrique du dosage de l'ionogramme sanguin (sodium, potassium).....	31
2.5.1.1. Dosage de l'ionogramme sanguin (sodium, potassium) par la méthode colorimétrique.....	31
2.5.1.1.1. Dosage du sodium.....	31
2.5.1.1.1.1. Principe.....	31
2.5.1.1.1.2. Réactifs (Sodium rapid).....	32

2.5.1.1.1.3.	Mode opératoire.....	33
2.5.1.1.1.4.	Mode de calculs des résultats.....	33
2.5.1.1.1.5.	Contrôle de qualité.....	33
2.5.1.1.2.	Dosage du potassium.....	34
2.5.1.1.2.1.	Principe.....	34
2.5.1.1.2.2.	Réactifs (Potassium liquirapid).....	34
2.5.1.1.2.3.	Mode opératoire.....	35
2.5.1.1.2.4.	Mode de calculs des résultats.....	35
2.5.1.1.2.5.	Contrôle de qualité.....	35
2.5.1.2.	Les performances analytiques de la méthode colorimétrique du dosage de l'ionogramme sanguin (sodium, potassium).....	36
2.5.1.2.1.	La limite de détection.....	36
2.5.1.2.2.	La linéarité.....	36
2.5.1.2.3.	La répétabilité.....	36
2.5.1.2.4.	La reproductibilité.....	37
2.5.1.2.5.	Justesse de la mesure.....	37
2.5.2.	Evaluation des coûts.....	38
2.5.2.1.	Coûts variables.....	38
2.5.2.2.	Coût marginal.....	38
2.5.2.3.	Coût d'imputation rationnelle.....	39
2.5.2.4.	Coût par activité (méthode ABC).....	39
2.5.2.5.	coûts directs.....	40
2.5.2.6.	Coûts spécifiques.....	40
2.5.2.7.	Coûts cibles.....	40
2.5.2.8.	Coûts préétablis.....	41
2.5.2.9.	Coûts complets.....	41
3.	GESTION DES DONNEES ET ANALYSE STATISTIQUES DES RESULTATS.....	42
4.	RESULTATS.....	42

4.1. Détermination des performances analytiques du dosage de l'ionogramme sanguin (sodium, potassium) par colorimétrie.....	42
4.1.1. Le sodium.....	42
4.1.1.1. La limite de détection.....	42
4.1.1.2. La linéarité.....	43
4.1.1.3. La répétabilité.....	45
4.1.1.4. La reproductibilité.....	47
4.1.1.5. Justesse de la mesure.....	49
4.1.2. Le potassium.....	49
4.1.2.1. La limite de détection.....	49
4.1.2.2. La linéarité.....	49
4.1.2.3. La répétabilité.....	52
4.1.2.4. La reproductibilité.....	54
4.1.2.5. Justesse de la mesure.....	56
4.2. Détermination du coût par test de la méthode.....	56
DISCUSSION.....	59
CONCLUSION.....	66
BIBLIOGRAPHIE	
ANNEXES	

INTRODUCTION

Un ionogramme indique la concentration des différents électrolytes dans un liquide. L'ionogramme sert à surveiller l'équilibre hydro-électrolytique et la surveillance des apports hydriques par perfusion.

Les électrolytes sont des sels minéraux en circulation qui jouent un rôle dans l'équilibre hydro-électrolytique, la transmission des influx nerveux, le métabolisme cellulaire. Ils sont essentiellement représentés par le sodium (principal cation du secteur extracellulaire), le potassium (principal cation secteur intracellulaire) et le chlore (principal anion du secteur extracellulaire) et sont dosés dans le sang par l'ionogramme sanguin [1, 2, 3, 4].

L'ionogramme sanguin est un paramètre biochimique très demandé en pratique hospitalière surtout dans les unités de soins intensifs pour un diagnostic rapide et la mise en place dans les plus brefs délais d'un traitement adéquat [4, 7]. Avec 9,36% durant Juin 1998 et Mai 1999, l'ionogramme sanguin (sodium, potassium) occupe la quatrième place des examens biochimiques les plus demandés au laboratoire de Biochimie de l'HALD [8] après la glycémie 16,41%, la créatininémie 14,24% et l'urée 11,56%.

Plusieurs techniques sont utilisées pour la détermination de l'ionogramme sanguin, la photométrie de flamme, la potentiométrie pour la détermination des ions sodium et potassium mais aussi des techniques chimique, physico-chimique et enzymatique pour la détermination de l'ion Chlore. De nouvelles techniques enzymatiques mais surtout colorimétriques, moins onéreuses que les précédentes sont d'introduction récente pour sa détermination [1, 10, 11, 12, 13, 14, 15].

La technique colorimétrique est une technique, qui, validée par nos laboratoires, pourrait régler le problème de la prise en charge des patients en néphrologie et en anesthésie réanimation [4, 9] surtout dans les zones périphériques qui ne disposent que d'un spectrophotomètre comme analyseur.

C'est dans cette optique que notre travail portera sur l'évaluation des performances analytiques du dosage de l'ionogramme sanguin par la méthode colorimétrique et de l'évaluation du coût de la méthode.

PREMIERE PARTIE : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

1. IONOGRAMME ET TROUBLES HYDRO ELECTROLYTIQUES

1.1. Définition et intérêt

L'ionogramme est la composition ionique d'un secteur hydrique, sa mesure se fait : dans le sang (ionogramme sanguin), dans les urines (ionogramme urinaire) et dans tout autre liquide biologique. Selon la nature de l'analyse on peut avoir :

- Ionogramme sanguin simple (au sens strict) : $\text{Na}^+ + \text{K}^+ + \text{Cl}^-$
- Ionogramme sanguin complet : $\text{Na}^+ + \text{K}^+ + \text{Cl}^- + \text{CO}_3\text{H}^-$
- Ionogramme sanguin étendu : idem + Ca^{++} + Phosphates
- Ionogramme urinaire : $\text{Na}^+ + \text{K}^+$

L'ionogramme a pour intérêt principal la détermination des troubles hydro-électrolytiques pouvant entraîner des conséquences sur le métabolisme et la surveillance des apports hydriques par perfusion [2].

En néphrologie et en réanimation, l'ionogramme sanguin (sodium, potassium) occupe une place importante pour le diagnostic et le suivi des patients [2, 3, 4, 7, 9]. Chez les insuffisants rénaux chroniques, l'ionogramme sanguin revêt un intérêt double, il permet de surveiller l'hyperhydratation et en même temps les pics hyperkaliémiques qui mettent en jeu le pronostic vital au-delà de certaines valeurs [3].

1.2. Rappel sur la physiopathologie des troubles hydro électrolytiques

1.2.1. Les électrolytes et leur répartition dans les compartiments cellulaires

Les électrolytes, représentés par les anions et les cations, sont présents à la fois dans les secteurs intra et extracellulaires séparés par une membrane : la membrane cellulaire ; de part et d'autre de celle-ci il y a un équilibre constant d'anions et de cations (Figure 1) [1].

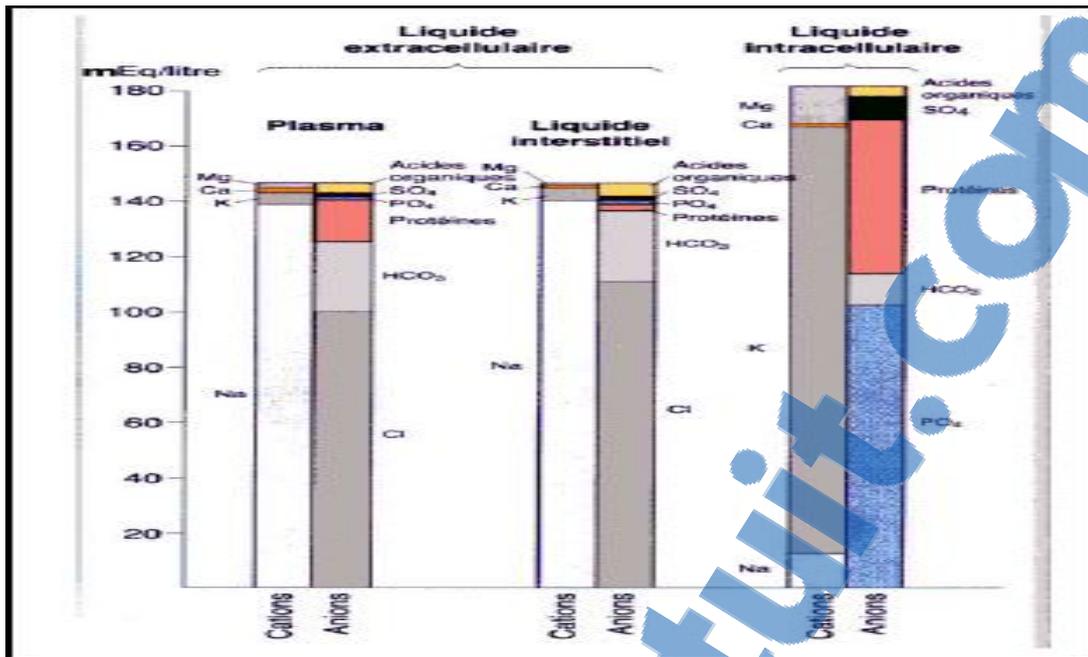


Figure 1 : Répartition des électrolytes suivant le compartiment cellulaire [16].

1.2.1.1. Le compartiment extracellulaire

Le compartiment extracellulaire représente 20% du poids du corps chez l'adulte, 40 % chez le nourrisson. Il est composé des compartiments plasmatique (5%) et interstitiel (15 %).

1.2.1.1.1. Le compartiment plasmatique

Outre ses 5% d'eau, ce compartiment renferme de nombreuses substances dissoutes (glucose, urée, créatinine etc.) et des électrolytes : cations et anions [1].

✚ LES CATIONS PLASMATIQUES

Le plus important est le **sodium Na⁺** (138 à 145 mmol/1 ou mEq/1). Il est le principal cation extracellulaire et reflète l'électrolytémie totale et la pression osmotique efficace du plasma. De plus, la natrémie participe à la régulation de l'équilibre acidobasique (le Na⁺ étant un élément alcalin), aux mouvements de l'eau et sa détermination en biologie clinique occupe une place fondamentale [2, 3].

Le **potassium K⁺** (4,5 à 5 mmol/1 ou mEq/1) est le principal cation intracellulaire, ce qui explique sa concentration basse dans le plasma.

Le **calcium Ca⁺⁺** est présent au taux de 2,3 à 2,5 mmol/1 soit 4,7 à 5 mEq/1.

Le **magnésium Mg⁺⁺**, cation intracellulaire, représente 1 à 1,2 mmol/1 soit 2 à 2,5 mEq/1.

✚ LES ANIONS PLASMATIQUES

Le **chlorure** (Cl^-) est le principal anion des liquides extracellulaires. Son taux est de 98 à 103 mmol/1 ou mEq/1. En raison de ses affinités avec l'ion sodium leurs métabolismes sont le plus souvent liés.

Le **bicarbonate** (CO_3H^-) exprime l'ancienne « réserve alcaline ». Sa concentration normale est de 26 à 28 mmol/1 ou mEq/1.

Les **protéines** sont, au pH du plasma, ionisées sous forme de **protéinates** R-COO^- , et peuvent donc intervenir comme des anions. Leur taux est de 65 à 75 g/1 et peut être artificiellement converti en mEq/1 grâce à un facteur multiplicatif de 0,243. Une valeur moyenne de 66 g/1 correspond donc à 16 mEq/1.

Les **acides organiques**, issus du métabolisme intermédiaire (pyruvate, lactate, oxaloacétate, oxoglutarate...) représentent environ 6 mEq/1.

Phosphates et **sulfates** forment environ 3 mEq/1 [1].

1.2.1.1.2. Le compartiment interstitiel

Il est en équilibre avec le compartiment plasmatique au travers de la paroi des capillaires et avec le compartiment intracellulaire au travers des membranes cellulaires [1].

Sa composition est grossièrement celle d'un ultrafiltrat plasmatique, c'est-à-dire que seules les protéines sont absentes et remplacées par des chlorures. Le sodium est discrètement diminué (135 mmol/1) en raison de l'équilibre de Donnan [1].

1.2.1.2. Le compartiment intracellulaire

L'eau intracellulaire compte pour 35 à 40 % du poids du corps et 55 à 60 % de l'eau totale de notre organisme. Son osmolalité est identique à celle du compartiment extracellulaire mais la nature des substances dissoutes est différente.

Le principal cation est le potassium, libre ou lié aux protéines cellulaires [1]. Il participe activement à la contraction musculaire, à la transmission de l'influx nerveux et d'une manière générale à tous les potentiels de membrane [6].

Le magnésium vient en deuxième place pour les cations cellulaires. Les anions sont essentiellement des phosphates et des protéinates [1]. (Tableau 1).

Tableau I : Tableau récapitulatif de la répartition des anions et cations dans les compartiments cellulaires en mEq/l [16].

<i>PLASMA</i>				<i>LIQUIDE INTERSTITIEL</i>				<i>LIQUIDE INTRACELLULAIRE</i>			
<i>Cations</i>		<i>Anions</i>		<i>Cations</i>		<i>Anions</i>		<i>Cations</i>		<i>Anions</i>	
<i>Na⁺</i>	142	<i>Cl⁻</i>	103	<i>Na⁺</i>	144	<i>Cl⁻</i>	116	<i>Na⁺</i>	10	<i>Cl⁻</i>	5
<i>K⁺</i>	5	<i>CO₃H⁻</i>	27	<i>K⁺</i>	5	<i>CO₃H⁻</i>	29	<i>K⁺</i>	140	<i>CO₃H⁻</i>	12
<i>Ca⁺⁺</i>	5	<i>PO₄H⁻</i>	2	<i>Ca⁺⁺</i>	3	<i>PO₄H⁻</i>	2	<i>Ca⁺⁺</i>	2	<i>PO₄H⁻</i>	100
<i>Mg⁺⁺</i>	3	<i>SO₄⁻</i>	1	<i>Mg⁺⁺</i>	2	<i>SO₄⁻</i>	1	<i>Mg⁺⁺</i>	35	<i>SO₄⁻</i>	20
		<i>Prot⁻</i>	16			<i>Prot⁻</i>	1			<i>Prot⁻</i>	30
		<i>Ac. Org.</i>	6			<i>Ac. Org.</i>	5			<i>Ac.Org.</i>	20
Total	155		155		154		154		187		187

1.2.2. La physiopathologie des troubles hydro-électrolytiques

Les troubles hydro-électrolytiques sont fréquemment rencontrés en situation d'urgence, qu'ils soient cause ou facteur de celle-ci [2, 4, 6]. Leur analyse est en grande partie clinique, aidée de quelques examens simples (ionogrammes sanguin et urinaire, gazométrie artérielle). Que cela soit par le déficit ou par l'inflation de tel ou tel secteur, les désordres hydro électrolytiques sont le résultat d'inégalités entre les entrées et les sorties d'eau et de sodium [1].

1.2.2.1. Les troubles électrolytiques

1.2.2.1.1. Le sodium

La natrémie est l'indice de l'hydratation intracellulaire si elle est le reflet correct de l'osmolarité sérique. L'hyper-natrémie équivaut à de l'eau qui sort des cellules, on parlera de **déshydratation cellulaire**, tandis que l'hyponatrémie à l'effet inverse et donne une **hyperhydratation cellulaire** [1].

➤ **Les hyponatrémies**

L'hyponatrémie est par définition une concentration sérique de sodium inférieure à la limite de référence (135 mmol/l). C'est l'anomalie la plus fréquente rencontrée en biochimie clinique soit 39,13% des hémodialysés avant la séance de dialyse [3]. La concentration sérique de sodium étant un simple rapport entre la quantité de sodium (en millimoles) et le volume d'eau (en litres), l'hyponatrémie peut découler soit d'une perte d'ions sodium, soit d'une rétention d'eau [1].

- **Perte de sodium**

Le sodium est le principal cation extracellulaire et joue un rôle crucial dans le maintien du volume sanguin et de la pression sanguine, par régulation osmotique des mouvements passifs de l'eau. Ainsi, lorsqu'il se produit une déplétion importante en sodium, de l'eau disparaît, entraînant les signes cliniques typiques associés à une déplétion du MEC.

Bien qu'une déplétion en sodium puisse résulter d'un apport insuffisant aussi bien que d'une perte, la première éventualité est extrêmement rare.

- **Rétention d'eau**

Une rétention d'eau dans les compartiments de l'organisme dilue les constituants de l'espace extracellulaire, sodium compris, provoquant une hyponatrémie. La rétention d'eau est beaucoup plus fréquente que la perte de sodium. La rétention d'eau peut résulter d'une élimination réduite ou d'une consommation accrue (ou des deux à la fois).

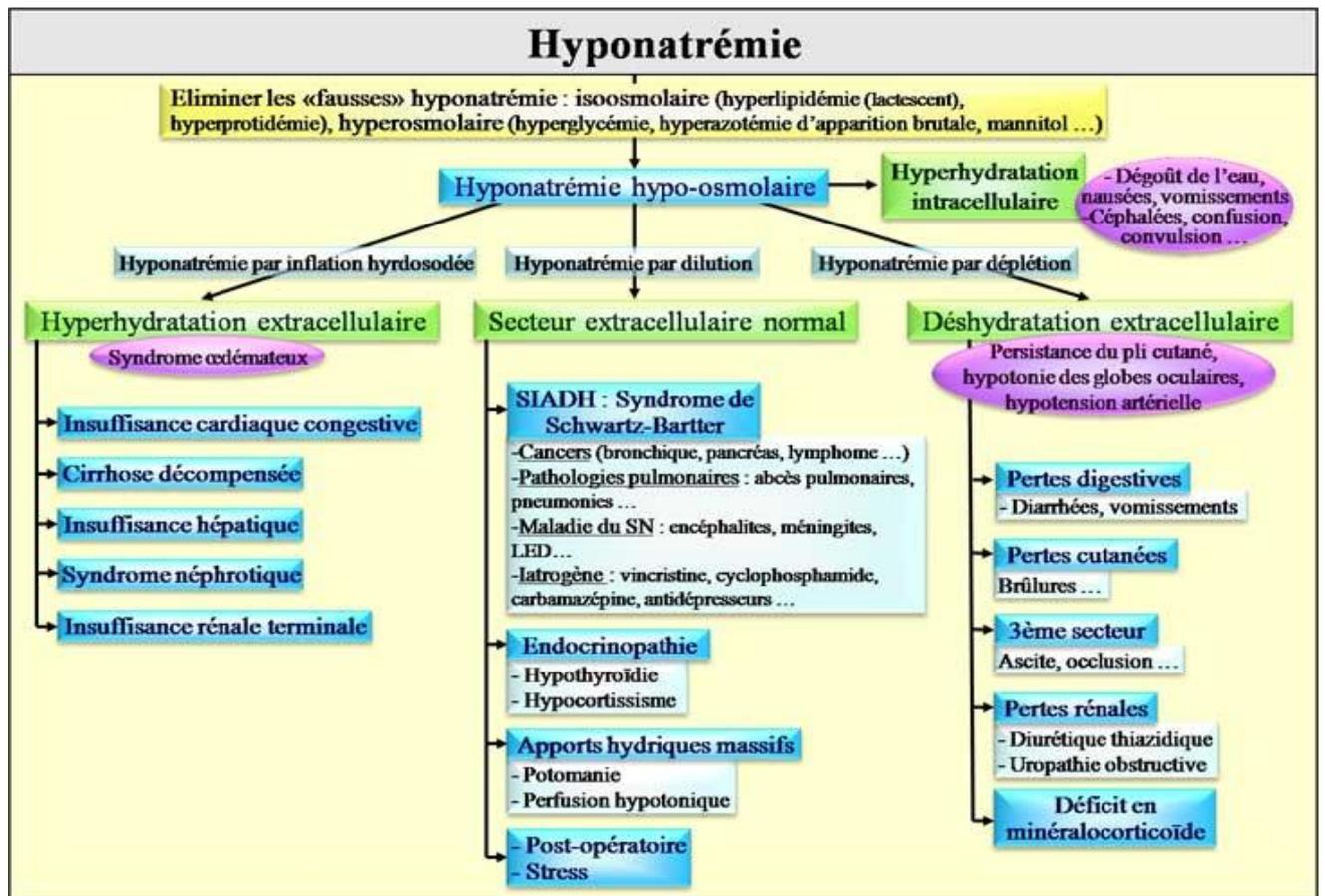


Figure 2 : Etiologies des hyponatrémies [17]

- **Signes cliniques**

D'autant plus discret que l'hyponatrémie est chronique et d'installation lente.

- Nausées, vomissements, céphalées,
- Dégout de l'eau
- Troubles neuropsychiques (Confusion, Somnolence, Convulsions...)

La gravité des hyponatrémies est liée à la survenue d'une HTIC (toujours dans les hyponatrémies d'installation rapide) responsable d'engagement avec troubles de la conscience et crises convulsives pouvant mener au décès [1, 7].

NB : Il existe des **Pseudo-hyponatrémies** :

- ✚ présence de quantités anormalement élevées de composés osmotiquement actifs (hyperglycémie sévère).
- ✚ présence de quantités anormalement élevées de substances entraînant une réduction du volume plasmatique (hyperprotéinémies, hyperlipidémies).

➤ Les hyper-natrémies

L'hyper-natrémie est une augmentation de la concentration sérique de sodium au-dessus de la fourchette de référence de 135-145mmol/l.

C'est une situation rare, préoccupante, car elle entraîne des complications graves et impose une décision thérapeutique urgente. Elle se développe au cours d'une perte d'eau ou d'un gain de sodium [1].

Il faut noter que l'hyper-natrémie est un manque d'eau et non une surcharge en sel dans plus de 99% des cas. Les surcharges hydro-sodées sont des situations cliniques exceptionnelles (le plus souvent d'origine iatrogène: patient anurique perfusé avec une solution hypertonique) [1].

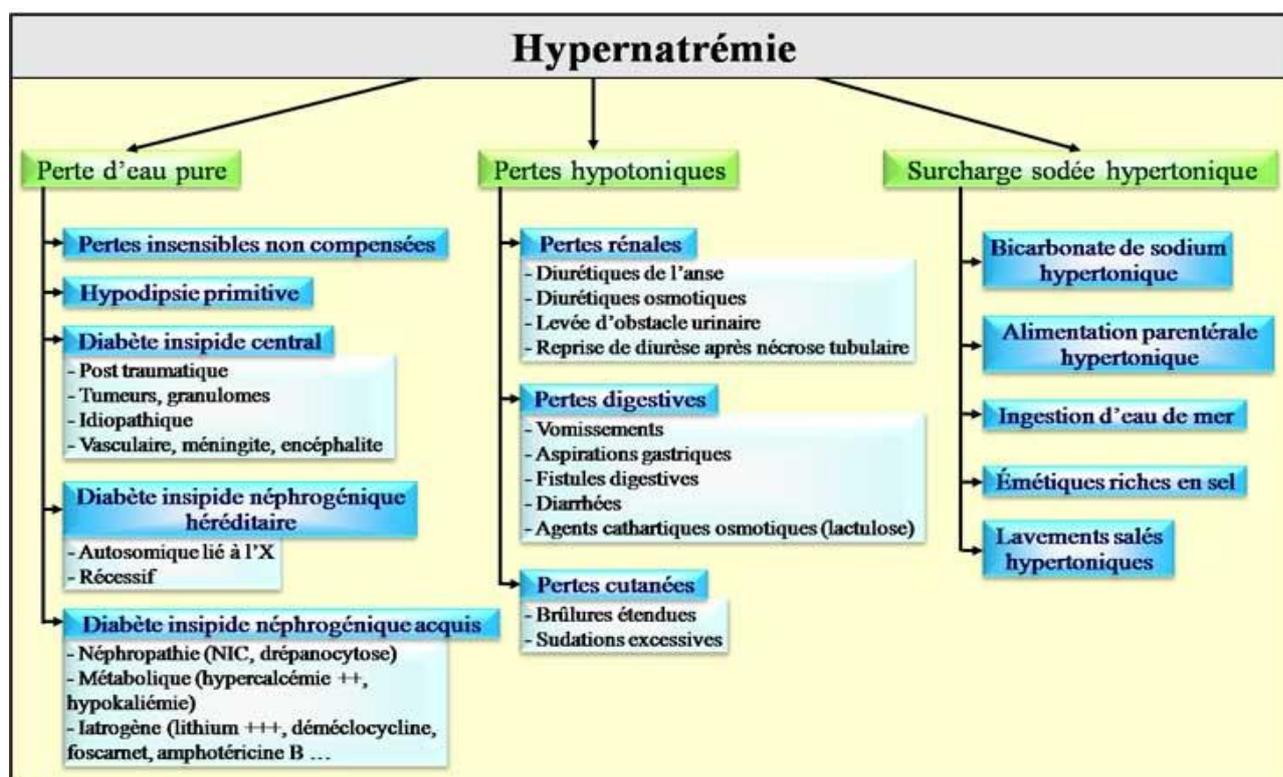


Figure 3 : Etiologies des hypernatrémies [18].

- **Perte hydrique pure**

Elle peut naître d'une réduction de l'apport ou d'une perte excessive d'eau

- **Perte d'eau et de sodium**

Elle peut se traduire par une hyper-natrémie si la perte d'eau dépasse la perte de sodium.

- **Signes cliniques**
 - Soif intense,
 - Fièvre,
 - Sécheresse des muqueuses,
 - Surtout des troubles neurologiques qui peuvent aller d'une simple obnubilation ou confusion jusqu'au coma.

Mais le risque principal de la déshydratation intracellulaire est la survenue des hématomes sous duraux ou intracérébraux.

1.2.2.1.2. Le potassium

Principal cation intracellulaire (98% du capital potassique). La petite fraction (2%) du potassium corporel total qui se trouve dans le compartiment extracellulaire est distribuée de manière proportionnelle entre le milieu interstitiel et le plasma [1].

La surveillance de la kaliémie est primordiale. Le potassium contribue au maintien de la polarité des cellules [1, 6]. Toute dys-kaliémie modifiera l'excitabilité cellulaire soit en hyperpolarisant soit en dépolarisant la cellule. Ainsi, les variations de concentration en potassium modifient l'excitabilité neuromusculaire, notamment cardiaque induisant des troubles du rythme [1, 6].

➤ L'hypokaliémie

Elle est définie par un taux de potassium $K^+ < 3,5 \text{ mmol/l}$, sa fréquence en médecine clinique n'est pas négligeable [1, 2, 3].

- Mécanismes
 - Augmentation des pertes +++
 - ✓ Pertes digestives ($U- K^+ < 20 \text{ mmol/l}$): le potassium peut s'échapper de l'intestin par suite de vomissements, de diarrhées, de prise de laxatifs
 - ✓ Pertes rénales ($U- K^+ > 20 \text{ mmol/l}$) : Polyurie osmotique, diurétiques hypokaliémisants, hyper-aldostéronisme primaire et secondaire, minéralocorticoïdes

- Transfert cellulaire (alcalose)
 - Carence d'apport (rare): une anorexie mentale (vomissements), nutrition parentérale...
- **Signes cliniques**
 - Troubles du rythme cardiaque,
 - Atteinte des muscles striés : asthénie, hypotonie, paralysie (< 2 mmol/L),
 - Atteinte des muscles lisses : paralysie intestinale (iléus paralytique) et gastrique, rétention d'urine.

➤ L'hyperkaliémie

C'est une kaliémie > 4,5 mmol/l. Une augmentation à plus de 6,5 mmol/l met en jeu le pronostic vital par arythmie ventriculaire [1, 3].

- Mécanisme
 - Surcharge intraveineuse en K⁺ (nutrition parentérale),
 - Insuffisance rénale (défaut d'élimination rénale entraînant une rétention de K⁺),
 - Insuffisance surrénalienne (hyporéninisme, hypoaldostéronisme),
 - Augmentation du catabolisme protéique (brûlures, hémorragies digestives).
- **Signes cliniques**
 - Signes myocardiques : troubles du rythme et de la conduction,
 - Signes musculaires : paresthésies, paralysies,
 - Troubles endocriniens : stimulation de la sécrétion d'insuline et d'aldostérone.

NB : on peut noter une pseudo-hyperkaliémie lors des hémolyses (dans le tube de prélèvement, à une pose prolongée du garrot).

1.2.2.1.3. Le chlore

Les ions chlorures représentent l'anion extracellulaire le plus abondant : 95 à 110 mEq/l ou mmol/l [1].

- **Les hypo-chlorémies** : $\text{Cl}^- < 90 \text{ mmol/l}$
 - Mécanismes
 - Peuvent accompagner une hyponatrémie
 - Vomissements abondants (riches en HCl)
 - Insuffisance rénale avec acidose métabolique

- **Les hyper-chlorémies** : $\text{Cl}^- > 110 \text{ mmol/l}$
 - Mécanismes
 - Peuvent accompagner une hyper-natrémie,
 - Hyper-chlorémie avec acidose métabolique,
 - ✓ pertes digestives de bicarbonates (diarrhées)
 - ✓ néphropathies tubulaires
 - ✓ Hyper-chlorémie avec alcalose respiratoire.

1.2.2.2. Les troubles de l'hydratation

1.2.2.2.1. L'Hyperhydratation

Il s'agit d'une rétention d'eau avec augmentation du volume du secteur vasculaire et/ou du secteur intracellulaire [1].

✚ L'hyperhydratation extracellulaire (HEC)

C'est une augmentation du stock sodé de l'organisme entraînant une rétention liquidienne.

- **Signes cliniques** : œdèmes, prise de poids
- **Signes biologiques** :
 - Hémodilution : hématicrite et protéinémie diminués
 - Natrémie et osmolarité normales
 - Natriurèse basse

- **Etiologies**
 - Cirrhose
 - Syndrome néphrotique
 - Insuffisance cardiaque
 - Insuffisance rénale

✚ L'hyperhydratation intracellulaire (HIC)

Il s'agit d'une rétention hydrique sans rétention sodée. L'hypo-osmolalité extracellulaire provoque un mouvement d'eau vers le secteur intracellulaire.

- **Signes cliniques**
 - Nausées, Vomissements
 - dégoût de l'eau, signes neurologiques (coma).
- **Signes biologiques**
 - Hyponatrémie,
 - Osmolalité plasmatique est diminuée $< 280 \text{ mOsm/l}$ (retenue d'eau supérieure à celle de Na^+),
 - Hématocrite et protidémie normaux.
- **Etiologie**
 - Insuffisance rénale chronique terminale
 - Hypo volémie vraie
 - Sécrétion inappropriée d'ADH

✚ L'hyperhydratation globale (HEC+HIC)

Il s'agit d'une hyponatrémie de dilution avec une rétention d'eau supérieure à la rétention sodée.

- **Signes cliniques et biologiques** = HIC + HEC
- **Etiologies** : Mêmes étiologies que les hyperhydratations extracellulaires, avec en plus un trouble de l'excrétion de l'eau.

1.2.2.2. La Déshydratation

Elle se traduit par une diminution du volume des secteurs extracellulaires et/ou intracellulaires [1].

✚ La déshydratation extracellulaire

Elle se définit comme une perte iso-osmotique d'eau et de sel avec une natrémie normale.

- **Signes cliniques**
 - Perte de poids +++, Asthénie, Soif
 - Hypotension artérielle ++, Tachycardie, signes de choc (extrémités froides, cyanose ...).
- **Signes biologiques**
 - Hémococoncentration: hyper-protidémie et augmentation de l'hématocrite,
 - Alcalose métabolique.

✚ La déshydratation intracellulaire

Il faut noter que toutes les perturbations du secteur intracellulaire sont d'abord dans le secteur extracellulaire, la perturbation intracellulaire en étant la conséquence. Dans la DIC on parle de déficit hydrique par une perte d'eau supérieure à la perte de sels.

- **Signes cliniques** : Ils dépendent de la rapidité d'installation
 - Perte de poids,
 - Soif, sècheresse des muqueuses,
 - polypnée, fièvre,
 - Signes neurologiques,
 - Risque d'hématome sous dural et de thrombose cérébrales ++.
- **Signes biologiques**
 - Hyper-natrémie,
 - Hyper-osmolarité (Osm P > 300 mOsm/l).

✚ La déshydratation globale (DIC + DEC)

Les deux types de déshydratation sont associés avec pertes d'eau supérieure aux pertes sodées ; on n'a un déficit hydrique associé à une baisse du capital sodé.

- **Signes cliniques et biologiques** : DEC + DIC
 - Hyponatrémie,
 - Hématocrite et protidémie élevés.
- **Etiologies**
 - **Origines rénales** : urine isotonique au plasma, $U\text{-Na}^+ > 20$ mmol/L = Diurèses osmotiques liées à une substance non électrolytique (glucose, urée, acides aminés, mannitol ...)
 - **Pertes d'origine extra-rénales** : urine hypertonique, $U\text{-Na}^+ < 20$ mmol/L
 - ✓ Affections avec pertes digestives
 - ✓ Pertes cutanées : Pertes sudorales excessives

2. ETUDE DES TECHNIQUES DE DOSAGE DE L'IONOGRAMME

L'ionogramme peut être dosé dans les liquides biologiques par méthodes photométrique, l'électrométrie par électrodes sélectives (potentiométrie), enzymatique ou colorimétrique [1, 10, 11,12, 13, 14, 15, 19,20].

2.1. Les cations plasmatiques (Na^+ et K^+)

2.1.1. La photométrie de flamme

Dans un atome ou un cation métallique, les électrons ont des niveaux énergétiques quantifiés. Toute variation d'énergie correspond au passage d'un électron d'un niveau énergétique à un autre. L'absorption d'énergie correspond à une transition électronique d'un état stationnaire à un autre de plus forte énergie : c'est l'état excité instable. L'émission énergétique, et en particulier l'émission de radiations électromagnétiques, correspond à la transition inverse : de l'état excité à l'état fondamental de plus basse énergie. Certains atomes ou cations métalliques sont susceptibles d'être excités par une flamme. Des électrons sont amenés à un niveau

d'énergie supérieure par chauffage dans la flamme d'un brûleur à gaz, et, lors du retour à l'état fondamental, il y a émission d'énergie lumineuse, sous forme de photons.

Pour un métal donné, il y a émission, dans ces conditions, d'un spectre de radiations simples, chacune d'elle correspond à une transition électronique possible.

La photométrie de flamme permet le dosage des cations alcalins Li^+ , Na^+ et K^+ [1, 11, 14].

La flamme est utilisée pour convertir l'élément à doser à l'état de vapeur atomique où les atomes subissent des transformations réversibles entre un état de base et un état excité : un électron passe sur une orbitale plus externe à niveau d'énergie plus élevé et restitue ensuite cette énergie sous forme de photons en revenant à son niveau initial. Les photons émis ont des fréquences caractéristiques de l'élément, qui constituent le spectre d'émission de cet élément (les métaux alcalins – lithium, sodium ou potassium n'ont en effet qu'un électron sur la couche périphérique) [1].

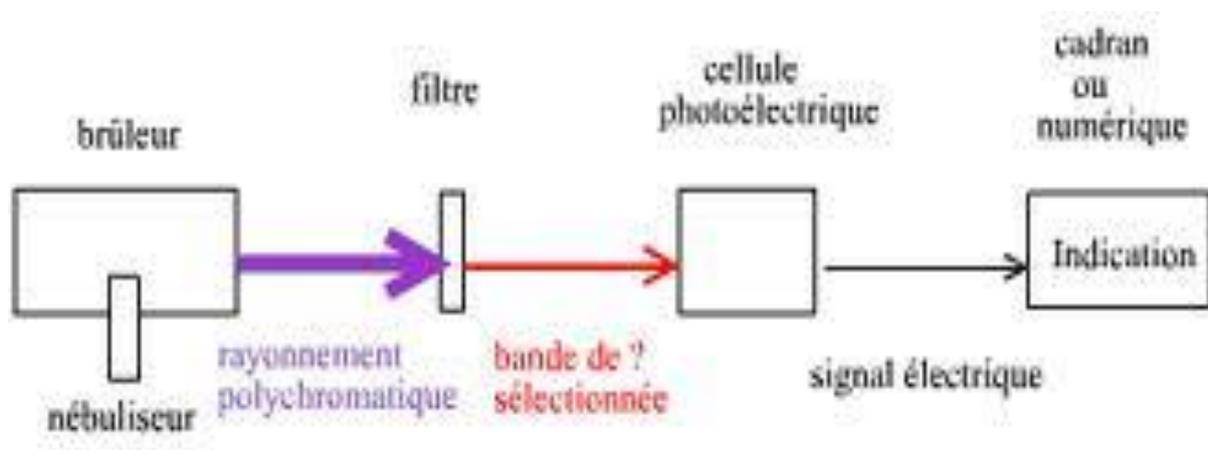


Figure 6 : Schéma de principe d'un photomètre de flamme [21].

Quel que soit le fabricant, le photomètre de flamme comporte toujours :

- ✚ **Nébulisateur** : Il permet d'envoyer dans la flamme la solution sérique ou urinaire ou tout autre liquide biologique, sous forme d'un aérosol de fines gouttelettes homogènes.
- ✚ **Le brûleur** : Il fournit une flamme (proche de 2000°C) dans laquelle on pulvérise la solution à analyser.

✚ **Analyseur optique** : Les photons émis ont une fréquence caractéristique du métal vaporisé. Chaque métal émet plusieurs raies et on choisit la plus caractéristique et la plus intense :

- Na^+ : 589 nm (raie jaune du sodium)
- K^+ : 767 nm
- Li^+ : 671nm.

Un sélecteur de longueur d'onde, à prisme, à réseau ou généralement à filtres, est indispensable. Les voies optiques sont au nombre de deux :

- l'une possède un filtre à 671 nm (Li) et sert de référence (étalon interne) en effet l'échantillon est toujours dilué dans une solution d'étalon interne, ce qui permet de tenir compte des variations de débit des gaz, de l'échantillon, de la température de la flamme. Certains appareils utilisent le césium comme étalon interne et permettent ainsi de doser le lithium sérique au cours des traitements lithiés en psychiatrie ;
- l'autre voie est double et reçoit au travers des filtres correspondants les signaux du sodium et du potassium.

✚ **Dispositif de mesure** : Il comprend les cellules photoélectriques, les phototubes d'amplification, le dispositif de conversion du signal électrique en affichage numérique exprimé en mmol/l avec déduction automatique du signal de l'étalon interne.

✚ **Dispositifs optionnels** : Ils améliorent grandement la praticabilité de l'appareillage : diluteur automatique, passeur d'échantillons, imprimante, connexion à un système informatique.

2.1.2. L'électrométrie par électrodes sélectives (Potentiométrie)

Depuis plus d'une décennie la mesure électrométrique des cations alcalins du sang est devenue habituelle. Ce développement est dû à la commercialisation de petits analyseurs adaptés à l'urgence et aux courtes séries dont l'automatisme rend l'emploi facile et attrayant [1, 19].

2.1.2.1. Traitement de l'échantillon

La mesure du sodium et du potassium par électrode sélective peut s'effectuer de deux façons [1] :

- ✚ soit sur des échantillons non dilués, ce qui donne accès à l'activité de l'ion telle qu'elle existe dans le plasma et permet l'utilisation de sang total. On parle de **Potentiométrie directe**
- ✚ soit sur des échantillons dilués où l'activité de l'ion est très différente de celle du spécimen originel. On parle alors de **Potentiométrie indirecte** (abus de langage car la potentiométrie elle-même reste bien sûr toujours directe).

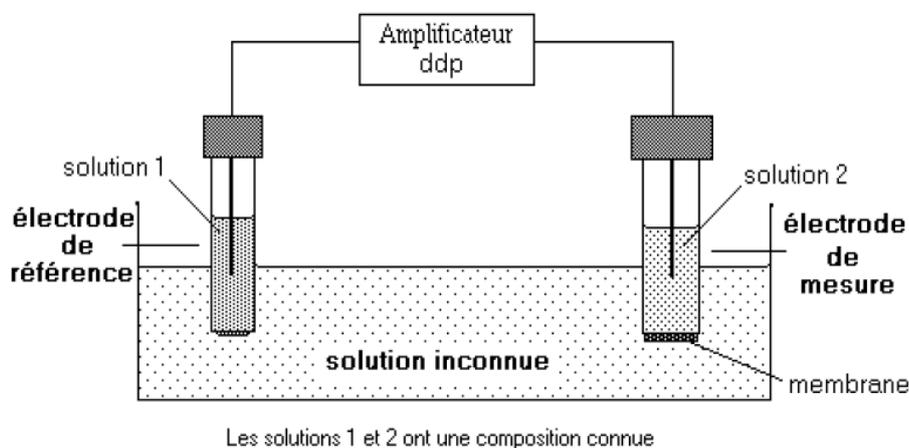


Figure 7 : Schéma de principe de la potentiométrie [1]

2.1.2.2. Traitement des dosages - Module de mesure

Les électrodes fonctionnent comme des piles de concentration et mesurent une différence de potentiel de part et d'autre d'une membrane sélective, ddp qui est reliée à l'activité de l'ion. Pour la mesure, on a recours à un module comportant, outre l'électrode de mesure, une électrode de référence caractérisée par la stabilité de son potentiel propre. Les électrodes de référence sont le plus souvent des électrodes au chlorure d'argent ou au calomel.

Les électrodes de sodium sont des électrodes de verre (verres spéciaux à l'oxyde de lithium et d'aluminium jouant le rôle de membrane). On obtient sur la membrane des « sites anioniques » tel que seul (ou presque) l'ion sodium va pouvoir pénétrer et générer un potentiel de membrane qui est proportionnel à la différence de

concentration en ions Na^+ des deux côtés de la membrane. Toute la technologie des appareils électrométriques vise à déterminer cette différence de potentiel qui est très faible.

Les électrodes de potassium sont toutes basées sur l'emploi de valinomycine incorporée, soit dans du PVC, soit dans une gomme de silicone. La valinomycine est un peptide cyclique solide, d'origine bactérienne, capable de « séquestrer » les ions K^+ et de former avec eux un complexe stable.

2.1.2.3. Traitement des mesures - Relation entre activité et concentration

Les électrodes sélectives répondent à l'activité des ions. La relation entre l'activité mesurée par l'électrode sélective sur échantillon non dilué et la concentration de l'ion considéré peut être exprimée sous forme mathématique. En fait il suffira de comparer les différences de potentiel obtenues aux bornes du système, d'une part avec un étalon et d'autre part avec l'échantillon inconnu. Seule la potentiométrie directe, avec échantillon non dilué, donne accès à la valeur vraie de l'ion mesure. Si l'on utilise la potentiométrie indirecte (dilution au 1720e en général) ou la photométrie de flamme (dilution au 17200e), les résultats devront être corrigés en fonction de l'eau plasmatique vraie. Celle-ci représente 93% du volume plasmatique, les 7% restant sont dus aux protéines et lipoprotéines. En présence d'hyperlipoprotéïnémies, en particulier à triglycérides ou d'hyperprotéïnémies, le pourcentage d'eau plasmatique est modifié et la correction pourra être apportée par la formule de Waugh :

$$\text{Eau plasmatique} = 99,1 - 0,073 (P) - 0,103 (L)$$

Où (P) représente le taux de la protéinémie en g/1 et (L) le taux de la lipidémie, apprécié par la somme cholestérol + triglycérides en g/1.

2.1.2.4. Conduite à tenir pratique

Chez le sujet normal, les concentrations obtenues par potentiométrie directe sont supérieures d'environ 7% par rapport à celles obtenues par potentiométrie indirecte ou par photométrie de flamme. Or, ce sont ces dernières que les cliniciens ont l'habitude d'utiliser. Cela pose donc un problème pratique dans la mesure où la

différence est trop importante pour être ignorée et qu'une adaptation des connaissances et des habitudes des utilisateurs cliniciens à l'usage courant de l'expression en concentration par litre d'eau plasmatisée vraie, n'est pas réalisable à court terme.

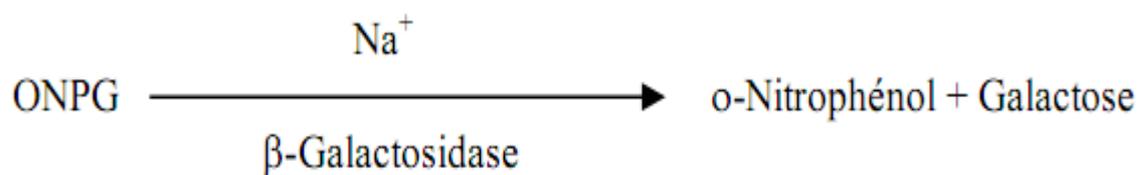
Dès lors, ce sont les résultats de la potentiométrie directe qui sont systématiquement minorés d'environ 7% pour les corrélés à ceux de la photométrie de flamme ou de la potentiométrie indirecte.

Dans le cas des appareils à potentiométrie indirecte (environ la moitié des analyseurs multiparamétriques de biochimie), il faudra corriger les fausses hyponatrémies des hyperlipidémies et des hyperprotidémies en calculant la valeur vraie de l'eau plasmatisée selon la formule ci-dessus.

2.1.3. Les techniques enzymatiques

2.1.3.1. Le sodium

Dans la réaction enzymatique d'Abaxis, la β -galactosidase est activée par le sodium dans l'échantillon. L'enzyme activée catalyse la réaction de O-nitrophényl- β -D-galactopyranoside (ONPG) en O-nitrophénol et galactose [13, 14, 20].



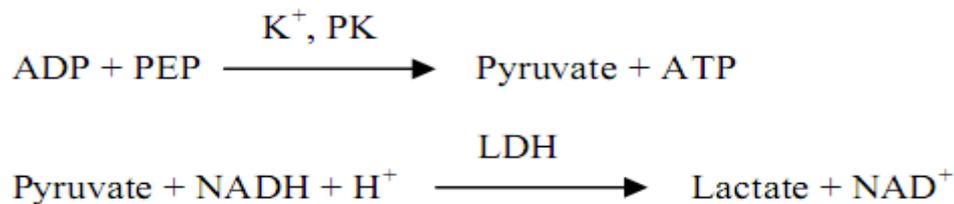
La vitesse de réaction entre 405 nm et 500 nm est proportionnelle à la concentration de sodium.

2.1.3.2. Le potassium

La méthode enzymatique utilisée par Abaxis est fondée sur l'activation du pyruvate kinase avec le potassium et donne une excellente linéarité ainsi qu'une sensibilité négligeable aux substances endogènes [13, 14, 20].

L'interférence provenant du sodium et de l'ion ammonium est minimisée par l'ajout de Kryptofix et de glutamine synthétase respectivement. (2 électrolytes apmnel).

Dans la réaction enzymatique couplée, le pyruvate kinase (PK) déphosphore le phosphoénolpyruvate afin de former le pyruvate. Le lactate déshydrogénase (LDH) catalyse la conversion du pyruvate en lactate. En même temps, la NADH est oxydée en NAD⁺.



Le taux de variation de l'absorbance entre 340 nm et 405 nm est causé par la conversion du NADH en NAD⁺ et est directement proportionnel à la quantité de potassium dans l'échantillon.

2.1.4. La technique colorimétrique

Elle est d'introduction récente et basées sur la complexation très sélective des ions par des chromo-ionophores macrocycliques avec, par exemple, échange quantitatif entre le lithium déjà présent et le sodium intégré à sa place dans l'ionophore.

L'échange s'accompagne d'une variation de l'absorbance à 500 nm proportionnelle à la concentration du sodium présent [1]. Elle fera l'objet de notre travail dans la deuxième partie.

2.2. Les Anions (Cl⁻)

Principal anion plasmatique, l'ion chlorure est très communément dosé par des méthodes chimiques et par des méthodes physicochimiques [1].

2.2.1. Les techniques chimiques

Elles utilisent des sels de mercure qui, en présence d'indicateurs appropriés, donnent après combinaison avec les ions Cl^- une réaction colorée permettant un dosage colorimétrique.

2.2.1.1. La méthode de SCHALES

Une solution de diphénylcarbazone, virant du jaune au violacé, permet un dosage colorimétrique donnant des résultats précis [1].

2.2.1.2. La méthode de ZALL

Mise au point pour les appareils automatiques, cette technique utilise le thiocyanate de mercure avec lequel les chlorures réagissent pour donner, selon la réaction suivante, des ions sulfocyanures [1] :



Ces ions vont réagir à leur tour avec du nitrate ferrique pour produire du sulfocyanure ferrique de coloration rouge-brun.

2.2.1.3. La méthode au TPTZ

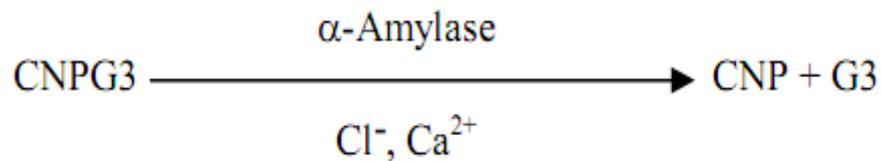
Elle utilise du nitrate mercurique et du sulfate ferreux qui donnent une coloration bleue lue à 595 nm avec le colorant TPTZ.

Ces méthodes sont très précises mais polluantes, des déchets de chlorure mercurique étant déversés à l'évier [1].

2.2.1.4. La méthode enzymatique

La méthode se base sur la détermination d'une activation chloro-dépendante d'une activité de l' α -amylase. Une α -amylase désactivée est réactivée en ajoutant l'ion chlorure, ce qui permet au calcium de se réassocier à l'enzyme. La réactivation de l'activité de l' α -amylase est proportionnelle à la concentration des ions chlorure dans

l'échantillon. L' α -amylase réactivée convertit le substrat, 2-chloro-p-nitrophényl- α -D-maltotriose (CNPG3) en 2-chloro-p-nitrophénol (CNP) produisant une coloration et de l' α -maltotriose (G3). La réaction est mesurée bi-chromatiquement, et l'accroissement d'absorbance est directement proportionnel à l'activité de l' α -amylase réactivée et à la concentration de chlorure dans l'échantillon [12, 13].



2.2.2. Les techniques physico-chimiques

2.2.2.1. La technique coulométrique

Par passage du courant entre deux électrodes en argent, il se forme des ions Ag^+ qui se combinent aux ions Cl^- de la solution et produisent un précipité de chlorure d'argent. Quand tous les ions Cl^- sont précipités, et que des ions Ag^+ « apparaissent » en excès, la conductibilité de la solution augmente alors brusquement, indiquant la fin de la réaction.

La prise d'essai est de l'ordre de 20 μl de plasma ou de sérum ; la détermination est très précise sous agitation constante. Des chloridomètres électroniques ont été réalisés selon ce principe [1].



Figure 8 : Schéma de principe d'un coulomètre [1].

2.2.2.2. Les techniques électrométriques par électrode sélective

L'électrode est constituée par une membrane compacte de chlorure d'argent. C'est une méthode qui tend à être universellement adoptée [1].

DEUXIEME PARTIE/ TRAVAIL

PERSONNEL

1. JUSTIFICATION ET OBJECTIFS DE L'ETUDE

1.1. Justification

Dans la plupart des cas, les méthodes d'analyses sont introduites dans les laboratoires sans une étude de validation préalable. Une des raisons avancée est le fait que ces méthodes sont pour la plupart expérimentées, validées et distribuées dans d'autres pays.

Cependant une bonne pratique d'un laboratoire nécessite la validation de toute technique nouvellement introduite suivant un processus standardisé : l'évaluation des performances de la technique (terme générique regroupant : réactifs, analyseur, type de calibrage, mode opératoire.....) suivie de leur validation (limite de détection, linéarité, justesse, répétabilité, reproductibilité) pour vérifier leur conformité à des normes [14, 22, 23, 24].

La détermination de l'ionogramme par son importance et son urgence [1, 3, 4, 5] nécessite des techniques de dosage fiables et rapides, pouvant être à la disposition de tous les laboratoires (réanimation, centre de santé....)

C'est dans cette optique que s'inscrit notre étude sur l'évaluation de la méthode colorimétrique du dosage de l'ionogramme sanguin et de son coût.

1.2. Les objectifs

1.2.1. Les objectifs généraux

Les objectifs de cette étude consisteront à évaluer les performances analytiques du dosage de l'ionogramme sanguin (sodium et potassium) par la méthode colorimétrique et de son coût.

1.2.2. Les objectifs spécifiques

✚ Déterminer :

- ✓ La limite de détection

- ✓ La linéarité
- ✓ La répétabilité
- ✓ La reproductibilité
- ✓ La justesse
- ✓ Le coût unitaire de la méthode

2. LA METHODOLOGIE

2.1. Le type d'étude

Il s'agit d'une étude prospective portant sur l'évaluation du dosage de l'ionogramme sanguin (Sodium et potassium) par la méthode colorimétrique.

2.2. Le cadre d'étude

Cette étude a eu pour cadre le laboratoire de Biochimie Médicale et de Biologie Moléculaire de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontologie de l'université Cheikh Anta DIOP de Dakar. Ce laboratoire se situe au 4^e étage du bâtiment dit « d'Anatomie », il comprend :

- Une salle de prélèvement située au rez-de-chaussée du bâtiment
- Un secrétariat, des bureaux
- Une salle pour les travaux pratiques
- Une salle de cours
- Le laboratoire proprement dit comprenant trois salles distinctes :
 - La salle principale où se fait le tri des échantillons
 - La salle de l'analyse des hormones
 - La salle des électrophorèses

2.3. Les spécimens biologiques

Des spécimens de contrôle Vitros Performance vérifier titrés à deux niveaux différents (I et II) de concentration sont choisis.

2.4. Le matériel

Les analyses sont effectuées avec :

- Un spectrophotomètre UV-Visible (*BTS-350 BioSystems*) avec les réactifs *Human : Sodium rapid* et *Potassium liquirapid*
- Micropipettes à embouts jetables,
- Embouts jetables,
- Tubes en plastique à usage unique,
- Parafilm,
- Gants non talqués à usage unique,
- Centrifugeuse,
- Agitateur de type Vortex.
- La conservation des réactifs se fait entre 15 et 25°C et à l'abri de la lumière.
- Logiciels : Word 2010, Excel 2010, Analyse-it version 2.30

2.5. La méthodologie

2.5.1. Evaluation des performances analytiques de la méthode colorimétrique du dosage de l'ionogramme sanguin (sodium, potassium).

Toute méthode de dosage ou de mesure est classiquement caractérisée (et validée) à l'aide d'une série de critères ou de grandeurs regroupant limite de détection, linéarité, justesse, répétabilité, reproductibilité [15, 22, 25, 26, 27, 28, 29,30, 31].

2.5.1.1. Dosage de l'ionogramme sanguin (sodium, potassium) par la méthode colorimétrique.

2.5.1.1.1. Dosage du sodium

2.5.1.1.1.1. Principe

Le dosage repose sur la détermination photométrique du sodium dans le sérum par la méthode à l'acétate de magnésium-uranyle.

Le sodium est précipité avec de l'acétate de magnésium-uranyle ; les ions d'uranyle restant en suspension forment un complexe coloré en brun-jaune avec de l'acide

thioglycolique. La différence entre le blanc de réactif (sans précipitation de sodium) et l'échantillon est proportionnelle à la concentration de sodium.

2.5.1.1.1.2. Réactifs (Sodium rapid)

Tableau II : composition des réactifs Sodium rapid Human

Solutions	Principes actifs	Concentration en mmol/l	Volume
Solution de précipitation (PREC)	Acétate d'Uranyle	19	60 ml
	Acétate de magnésium	140	
Réactif de coloration (RGT)	Ammonium thioglycolate	550	60 ml
	Ammoniaque	550	
Solution Etalon (STD)	Sodium Na ⁺	150	2 ml

Stabilité des réactifs

Conservés à 15-25°C et à l'abri de la lumière, les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée.

2.5.1.1.1.3. Mode opératoire

Tableau III : Mode opératoire du dosage du sodium

	Macro		
BR : Blanc réactif STD : Etalon EC : Echantillon	BR (µl)	STD (µl)	EC (µl)
STD	...	50	...
Sérum	50
PREC	...	3000	3000
Boucher les tubes et bien agiter. Laisser reposer 5minutes. Agiter vigoureusement pour au moins 30secondes. Laisser reposer 30mn. Centrifuger 5-10mn à grande vitesse.			
PREC	50
Surnageant	...	50	50
RGT	3000	3000	3000
Bien mélanger. Laisser reposer 5-30mn. Lire les absorbances du blanc de réactif (ΔABR), du standard ($\Delta ASTD$) et de l'échantillon (ΔAEC) contre de l'eau distillée à 360-410nm.			

2.5.1.1.1.4. Mode de calculs des résultats

La concentration (C) de sodium se calcule comme suit :

$$C(\text{en mmol/l}) = \frac{(\Delta ABR - \Delta AEC)}{(\Delta ABR - \Delta ASTD)} \times CSTD$$

2.5.1.1.1.5. Contrôle de qualité

Tous les sérums de contrôle de qualité aux valeurs de sodium déterminées par cette méthode peuvent être utilisés.

Nous avons utilisé les sérums de contrôle *HumaTrol* pour valider nos résultats.

2.5.1.1.2. Dosage du potassium

2.5.1.1.2.1. Principe

C'est un test photométrique turbidimétrique.

Dans un milieu alcalin, sans protéines, les ions de potassium réagissent avec le tétraphénylboron de sodium pour former un précipité finement dispersé de tétraphénylboron de potassium. La turbidité produite est proportionnelle à la concentration de potassium.

2.5.1.1.2.2. Réactifs (Potassium liquirapid)

Tableau IV : composition des réactifs Potassium liquirapid de Human

Solution	Principes actifs	Concentration en mol/l	volume
Précipitant	Acide trichloroacétique	0,3	50ml
Réactif TPB-Na	Tétraphénylboron de sodium	0,2	50ml
Réactif NaOH	Hydroxyle de sodium	2,0	50ml
Etalon	Potassium	5,0	5ml

Préparation des solutions

Mélanger le contenu du flacon TPB avec le contenu du flacon NaOH. Pour obtenir de petites quantités du réactif de travail, mélanger le TPB et Na OH à part égale 1+1.

Laisser 15 à 30 mn avant l'emploi.

Le PREC et le STD sont prêts à l'emploi. Utiliser STD non dilué pour la détermination.

Stabilités des réactifs

Conservés à 2-25°C, les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée.

Le réactif de travail est stable 30 jours à 15-25°C et 60 jours à 2-8°C.

2.5.1.1.2.3. Mode opératoire

Tableau V : Mode opératoire du dosage du potassium

Précipitation		
Pipeter dans des tubes de centrifugation		
	Macro	
Echantillon	100 µl	
PREC	1000 µl	
Mélanger soigneusement. Centrifuger 5 à 10 minutes à grande vitesse.		
Détermination		
Pipeter dans des cuvettes		
	STD	Echantillon
Réactif de travail	2000 µl	2000 µl
STD : étalon	200 µl	...
Surnageant	...	200 µl
Afin d'obtenir une turbidité homogène, ajouter STD et le surnageant au milieu du réactif de travail. Immédiatement mélanger avant de passer à l'échantillon suivant. Laisser reposer au moins 5 minutes.		
Lire l'absorbance de l'étalon (Δ ASTD) et de l'échantillon (Δ AEC) contre le blanc du réactif de travail dans les 5 à 30 minutes à 578nm.		

2.5.1.1.2.4. Mode de calculs des résultats

La concentration (C) de potassium se calcule comme suit :

$$C(\text{en mmol/l}) = \frac{\Delta\text{AEC}}{\Delta\text{ASTD}} \times \text{CSTD}$$

2.5.1.1.2.5. Contrôle de qualité

Tous les sérums de contrôle de qualité aux valeurs de potassium déterminées par cette méthode peuvent être utilisés.

Nous avons utilisé les sérums de contrôle *HumaTrol* pour valider nos résultats.

2.5.1.2. Les performances analytiques de la méthode colorimétrique du dosage de l'ionogramme sanguin (sodium, potassium)

2.5.1.2.1. La limite de détection

Pour déterminer la limite de détection (LD) de l'ionogramme sanguin (sodium, potassium) par la technique colorimétrique, nous allons effectuer des mesures répétées de l'absorbance du blanc de la réaction dans une même série de 30 dosages. La limite de détection est définie pour un risque évalué à 5 % par la formule:

$$LD = 3 S(c)$$

S(c) correspond à l'écart-type des valeurs obtenues pour les dosages des blancs de réactif en unité d'absorbance, transformé en concentration par rapport à la pente de la droite d'étalonnage en considérant le zéro et le premier point de la gamme étalon. Le spécimen est constitué du diluant pour spécimen calibrateur Vitros, ne contenant ni sodium ni potassium [22, 25, 27].

2.5.1.2.2. La linéarité

La linéarité d'une procédure d'analyse est sa capacité (à l'intérieur d'un certain intervalle de variation) à fournir des réponses directement proportionnelles à la concentration (quantité) de la substance dosée. La linéarité doit être étudiée sur tout l'intervalle de mesure de la procédure analytique considérée [25, 27, 30].

Pour l'étude du domaine de linéarité de la technique de dosage du sodium et du potassium par colorimétrie, nous allons effectuer des dosages en triple des dilutions successives du spécimen de contrôle Vitros performance verifier niveau II avec du diluant pour spécimen Vitros performance verifier.

2.5.1.2.3. La répétabilité

Elle se rapporte à des essais de la même grandeur effectués dans des conditions aussi stables que possible et à de courts intervalles de temps, dans un même laboratoire, par un même opérateur employant le même équipement [15, 25, 26, 27, 28, 30].

Son évaluation pour la méthode colorimétrique du dosage de l'ionogramme sanguin va se faire sur quarante séries de dosage des spécimens Vitros performance verifier niveau I et niveau II.

2.5.1.2.4. La reproductibilité

La reproductibilité a trait à des essais effectués dans des conditions fortement variables, à des jours différents, dans différents laboratoires, avec des opérateurs différents et un équipement différent [15, 25, 26, 27, 28, 30].

Pour son évaluation, nous allons effectuer vingt séries de dosage des sérums Vitros performance verifier niveau I et niveau II. Chaque spécimen va être dosé en deux temps.

2.5.1.2.5. Justesse de la mesure

La justesse est définie par l'étroitesse de l'accord entre la valeur moyenne obtenue et la valeur de référence considérée comme la valeur vraie. La justesse ne doit pas être confondue avec l'exactitude qui mesure le décalage total entre le résultat et la valeur vraie, intégrant à la fois les erreurs aléatoires et systématiques.

La justesse est quantifiée par le biais relatif en tenant compte de l'intervalle de confiance de la moyenne [15, 22, 26, 27, 30]

$$\text{Biais relatif (\%)} = 100 \times \frac{m-v}{v}$$

Intervalle de confiance de la moyenne : $ICm = m \pm t \cdot \frac{s}{\sqrt{n}}$

Avec $m = \frac{\sum xi}{n}$

xi : Valeurs des mesures, m : moyenne des mesures ; n: nombre de série

v : valeur vraie ; t : facteur fonction du nombre de degré de liberté et du risque retenu, en général 5 %, défini dans la table de Student

L'évaluation de la justesse des mesures par colorimétrie des concentrations du sodium et du potassium des spécimens de contrôle Vitros performance verifier I et II va se faire sur quarante séries de dosage.

2.5.2. Evaluation des coûts

La connaissance des coûts est depuis le début de la révolution industrielle, un impératif de base de toute prise de décision. La notion de comptabilité industrielle manifesta très tôt cette nécessité et se traduisit par la mise en place par les comptables, mais aussi par les ingénieurs et les techniciens, de systèmes de calcul aptes à les aider dans leur gestion [32, 33].

2.5.2.1. Coûts variables

Un coût variable est un coût qui varie plus ou moins proportionnellement à l'activité de l'entreprise.

Les coûts d'achat des matières premières ou les frais d'expédition sont des coûts variables qui augmentent lorsque les ventes en volume augmentent. Dans ce cas, il faut noter que l'augmentation des coûts d'achat n'est pas forcément strictement proportionnelle à celle de l'activité, car l'augmentation des volumes de production peut permettre d'obtenir de meilleures conditions d'achat des matières premières.

On distingue généralement les coûts variables et les coûts fixes ou coûts de structure. Plus la part des coûts fixes est importante plus une augmentation des volumes de vente permet d'accroître les résultats de l'entreprise par une réduction du coût de production unitaire.

La notion de coût variable peut également s'appliquer aux investissements liés aux campagnes marketing

2.5.2.2. Coût marginal

Le coût marginal de production est le coût induit par la fabrication d'une unité supplémentaire d'un bien. Le coût marginal de production d'un produit numérique est pratiquement nul. Si un logiciel est téléchargé par des clients, son coût de reproduction peut être considéré comme nul.

2.5.2.3. Coût d'imputation rationnelle

Le coût de revient d'un produit varie en fonction du volume d'activité. Lorsque l'activité est importante, les charges fixes sont absorbées par une plus grande production (économies d'échelle) ; le coût de revient unitaire est moindre.

L'imputation rationnelle vise à neutraliser l'effet des variations d'activité dans le calcul des coûts.

C'est une méthode qui consiste à inclure dans les coûts des charges fixes calculées d'après le rapport entre le niveau réel d'activité et le niveau normal d'activité.

2.5.2.4. Coût par activité (méthode ABC)

Une activité se définit comme un ensemble de tâches élémentaires.

Le premier principe est tout d'abord de recenser toutes les activités génératrices de valeur puis ensuite d'évaluer pour chacune d'elles, le coût correspondant.

L'inducteur est l'unité de mesure de l'activité.

Un processus est un ensemble d'activités nécessaires pour fournir un produit ou un service.

La méthode ABC se concentre essentiellement sur les coûts des activités qui seront affectés par la suite aux coûts des produits fabriqués et vendus.

Le coût d'une activité quelconque peut ainsi, être constitué des coûts relatifs aux tâches suivantes :

Commande + Fabrication + Facturation + Expédition + Maintenance

La méthode ABC présente plusieurs avantages :

- elle permet une **connaissance** plus précise des coûts grâce à un découpage plus fin et plus pertinent des charges indirectes,
- elle permet une véritable **maîtrise** des charges indirectes en remontant aux causes réelles de ces coûts et en mettant en évidence des effets de subventionnement.

En revanche elle est plus lourde et plus complexe que la méthode des centres d'analyse et doit donc être réservée aux entreprises dont la structure des charges ou la complexité du portefeuille des produits le justifie : charges indirectes supérieures

aux charges directes et/ou coexistence de produits standards et sur mesure, de petites et de grandes séries, etc

2.5.2.5. coûts directs

Cette méthode présente un intérêt pour les entreprises industrielles dont la fabrication se diversifie autour de plusieurs produits. Elle permet de préciser le calcul des coûts de revient et d'évaluer des marges par produit.

Le coût direct d'un produit est composé :

- ✚ des charges directes qui lui sont directement affectées (le plus souvent variables : matière première, main d'œuvre directe, ...),
- ✚ des charges indirectes rattachées sans ambiguïté. Ces charges peuvent être variables (énergie, entretien, ...) ou fixes (amortissements, assurances, ...).

Après évaluation du chiffre d'affaire réalisé pour chaque produit et après déduction du coût direct, il sera possible de faire apparaître une marge sur coût direct, traduite ensuite par un taux exprimé par rapport au prix de vente.

2.5.2.6. Coûts spécifiques

Méthode de calcul des coûts prenant en compte l'ensemble des charges identifiables se rapportant à un produit, une activité, un centre de responsabilité... à savoir les coûts variables directs et indirects et la partie directe des coûts fixes. Un produit, une activité, un centre de profit seront qualifiés de rentable s'ils dégagent une marge sur coût spécifique contribuant à la couverture des charges fixes indirectes (communes).

2.5.2.7. Coûts cibles

La méthode des « Coûts Cibles » consiste à déterminer pour un produit quelconque un « coût objectif » à ne pas dépasser en raison du prix imposé par le marché et de la marge bénéficiaire prévue et définie par l'entreprise.

Elle repose sur la relation suivante : **Coût cible = Prix de vente - Marge bénéficiaire**

Cette méthode fut développée au Japon dans les années 80 dans l'industrie automobile.

Lorsque le coût estimé à priori ou coût préétabli est supérieur au « coût cible », les conséquences peuvent être envisagées :

- ✚ soit une modification du produit ou de sa composition (modification d'ordre technique),
- ✚ soit des changements dans les conditions d'approvisionnement et de fabrication (réduction des coûts).

2.5.2.8. Coûts préétablis

Le Plan Comptable Général définit un coût préétabli comme : « **un coût évalué à priori** :

- ✚ soit pour faciliter certains traitements analytiques,
- ✚ soit pour permettre le contrôle de gestion par **l'analyse des écarts**.

La valorisation des programmes de production nécessite le calcul de coûts préétablis. Il s'agit d'établir à priori, sur la base d'une **activité normale**, des coûts prévisionnels normaux en vue de calculer à posteriori des **écarts** entre **coûts réels constatés** et **coûts préétablis**.

2.5.2.9. Coûts complets

Déjà utilisée au XVIème siècle, la méthode des coûts complets consiste à calculer les coûts de production des produits en répartissant les charges directes et les charges indirectes.

La répartition des charges directes ne présente pas de difficulté, car elles peuvent être imputées directement aux produits.

Les charges indirectes se répartissent dans des centres selon des clefs de répartition. Ces clefs appelées unités d'œuvre, qui sont des rapports aux produits, sont fixées plus ou moins arbitrairement.

La somme des charges réparties divisée par le nombre de produit permet de trouver le cout de production unitaire.

La méthode des coûts complets appliquée à la biochimie clinique permet de calculer le cout par test d'une méthode de dosage.

3. GESTION DES DONNEES ET ANALYSE STATISTIQUES DES RESULTATS

Les résultats obtenus sont saisis sur un fichier Excel 2010 puis analysés par le logiciel Analyse-it version 2.30 [34].

L'analyse statistique permettra d'évaluer la limite de détection, la linéarité, la répétabilité, la reproductibilité et la justesse des mesures des spécimens de contrôle et aussi le coût unitaire de la méthode.

4. RESULTATS

Pour l'évaluation des performances analytiques du dosage sanguin de l'ionogramme par la méthode colorimétrique, nous utiliserons le protocole de la société française de biologie clinique [22] et la méthode des coûts complets pour la détermination du coût unitaire.

4.1. Détermination des performances analytiques du dosage de l'ionogramme sanguin (sodium, potassium) par colorimétrie.

4.1.1. Le sodium

4.1.1.1. La limite de détection

Les résultats des 30 séries de dosage consignés dans l'Annexe I, nous a permis de déterminer respectivement :

- ✚ La moyenne = 0,8149
- ✚ le coefficient de variation = 2,9 %
- ✚ l'écart-type des absorbances = 0,0237 unité d'absorbance.
- ✚ L'absorbance obtenue pour le point zéro du calibrage est de 0,697 unité d'absorbance, et pour le calibrant (150 mmol/l) de 0,304 unité d'absorbance.

$$LD = 3x \frac{0,0237x150}{(0,304-0,697)} = -27,1 \text{ mmol/l}$$

Etant donné que la méthode de dosage du sodium est une technique colorimétrique différentielle (différence absorbance entre le blanc de réactif et l'échantillon), la limite de détection du sodium est de 27,1 mmol/l.

4.1.1.2. La linéarité

Les données obtenues par l'exploitation des résultats du dosage du sodium par la méthode colorimétrique (voir annexe II) lors des dilutions successives du spécimen Vitros Performance verifier niveau II, ont fournies les résultats suivants (tableau 7 et figure 12) :

Tableau VI : Résultats des mesures des dilutions pour l'étude du domaine de linéarité du dosage du sodium par la méthode colorimétrique.

Dilution	Moyenne	Forme de linéarité	Forme de non linéarité	Non linéarité	Non linéarité %	Objectifs de non linéarité
1	-7,17	-6,29	-	-	-	-0,36
2	3,90	6,84	-	-	-	0,20
3	23,03	19,97	-	-	-	1,15
4	34,40	33,09	-	-	-	1,72
5	48,33	46,22	-	-	-	2,42
6	54,93	59,35	-	-	-	2,75
7	76,43	72,48	-	-	-	3,82
8	90,13	85,60	-	-	-	4,51
9	91,90	98,73	-	-	-	4,60
10	107,10	111,86	-	-	-	5,36
11	129,83	124,98	-	-	-	6,49

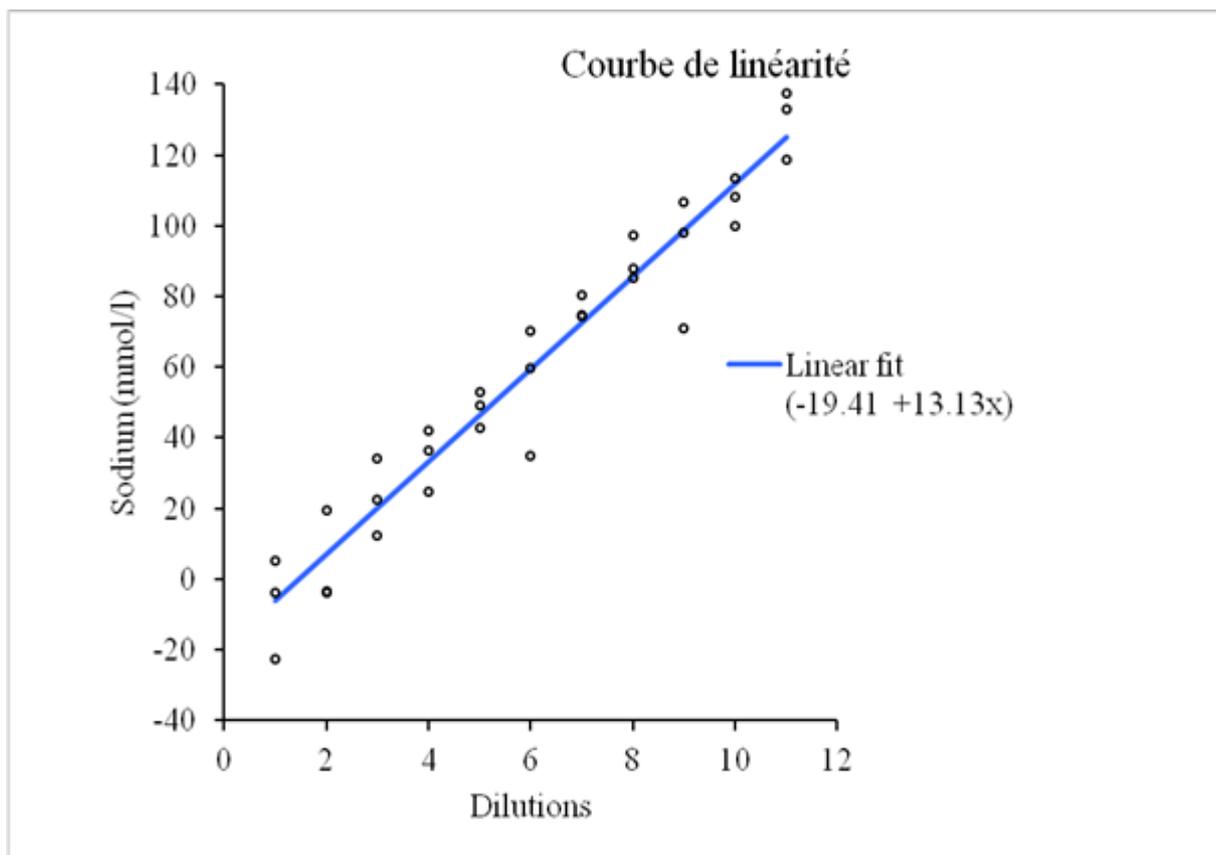


Figure 9 : Courbe d'évaluation du domaine de linéarité de la technique de dosage du sodium par colorimétrie.

4.1.1.3. La répétabilité

L'exploitation des données obtenues par l'étude des quarante séries de dosage des spécimens Vitros performance verifier niveau I et niveau II (voir Annexe IV), a fourni les résultats suivants (tableau 8 et figure 13).

Tableau VII : Résultats des mesures des deux spécimens de contrôle Vitros performance verifier pour l'étude de la répétabilité du dosage du sodium par la méthode colorimétrique.

	Spécimen Vitros performance verifier niveau I	Spécimen Vitros performance verifier niveau II
Nombres de séries	40	40
Concentration cible	123,9 mmol/l	144,9 mmol/l
Moyenne	120,26 mmol/l	140,52 mmol/l
S (Ecart-type)	9,75 mmol/l	9,12 mmol/l
95%CI (Intervalle de confiance de l'Ecart-type)	7,99-12,52 mmol/l	7,47-11,71 mmol/l
CV (coefficient de variation)	7,9%	6,3%

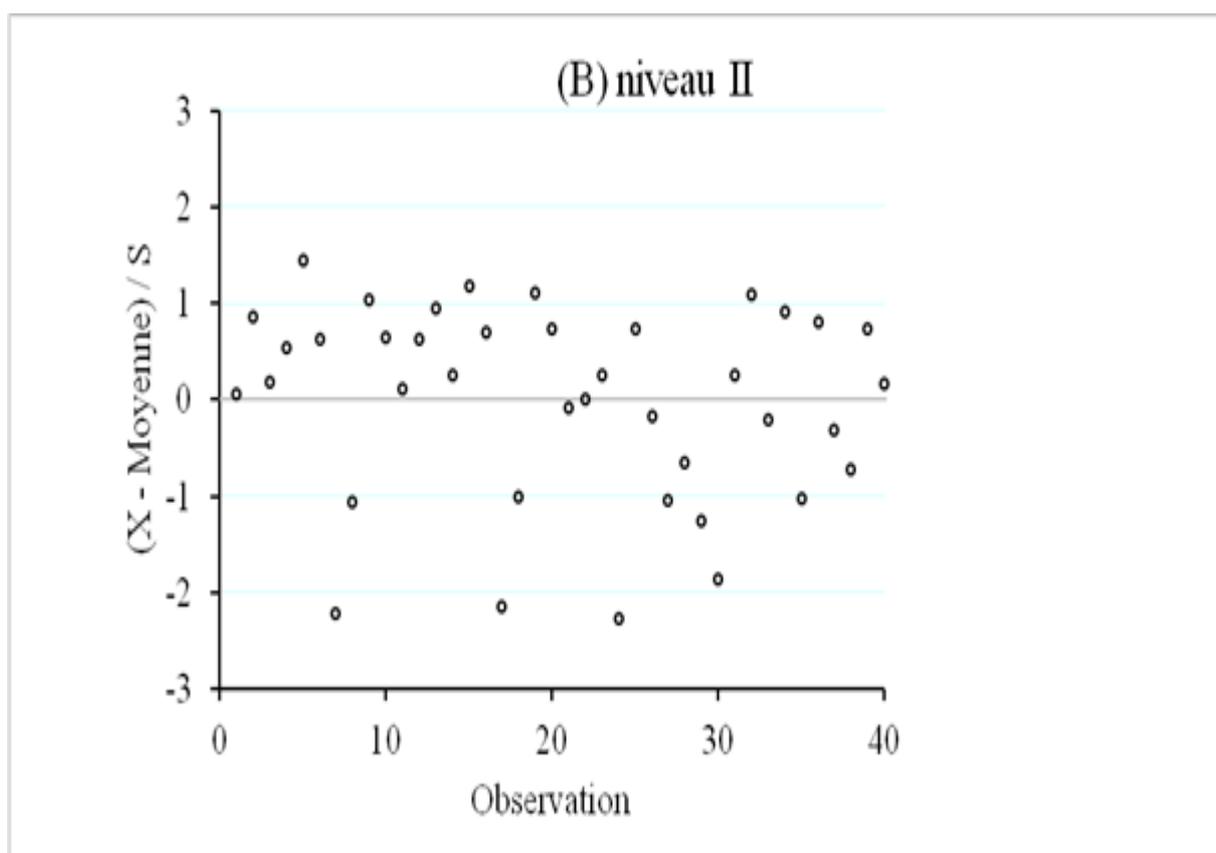
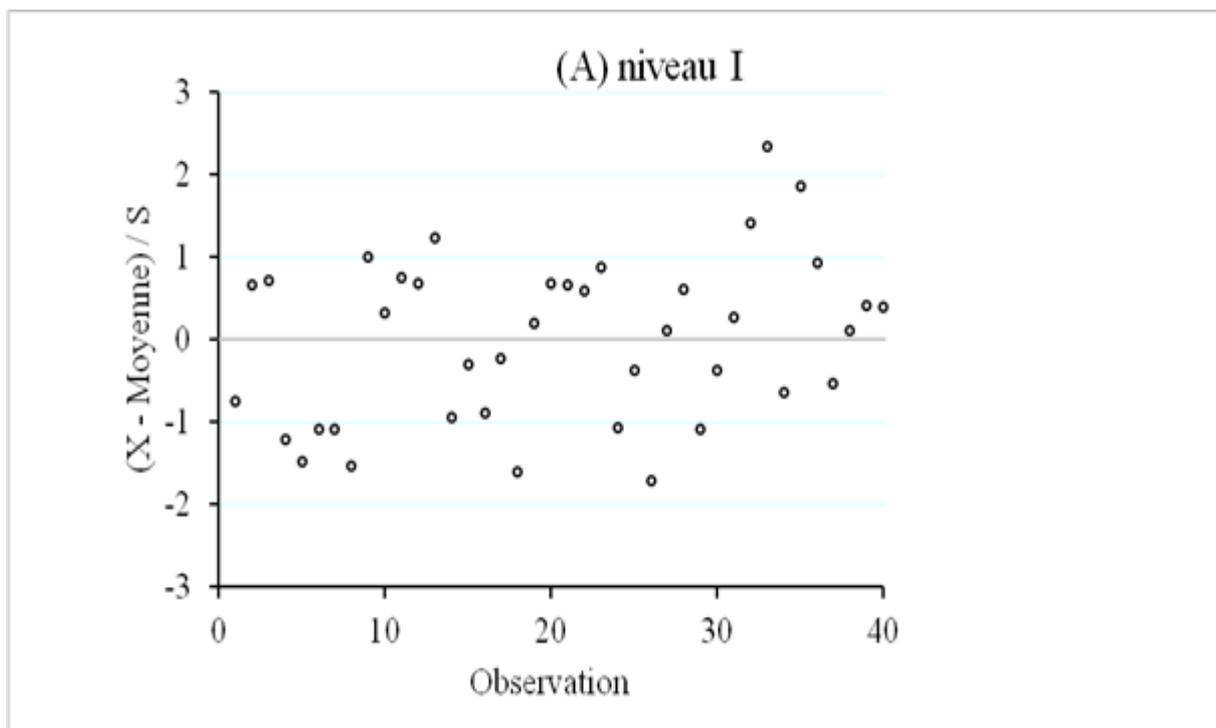


Figure 10 (A,B) : Distribution des concentrations des deux spécimens de contrôle Vitros performance verifier pour l'évaluation de la répétabilité de la technique de dosage du sodium par colorimétrie

4.1.1.4. La reproductibilité

L'étude des vingt séries de dosage des spécimens Vitros performance verifier niveau I et niveau II (voir annexe V), a fourni les résultats suivants (tableau 9 et figure 14)

Tableau VIII : Résultats des mesures des deux spécimens de contrôle Vitros performance verifier pour l'étude de la reproductibilité du dosage du sodium par la méthode colorimétrique

	Spécimen Vitros performances verifier niveau I	Spécimen Vitros performances verifier niveau II
Nombres de séries	20	20
Moyenne	8,39 mmol/l	9,19 mmol/l
S (Ecart-type)	6,89 mmol/l	7,74 mmol/l
95%CI (Intervalle de confiance de l'Ecart-type)	5,24-10,06 mmol/l	5,89-11,31 mmol/l
CV (coefficient de variation)	82,1%	84,3%

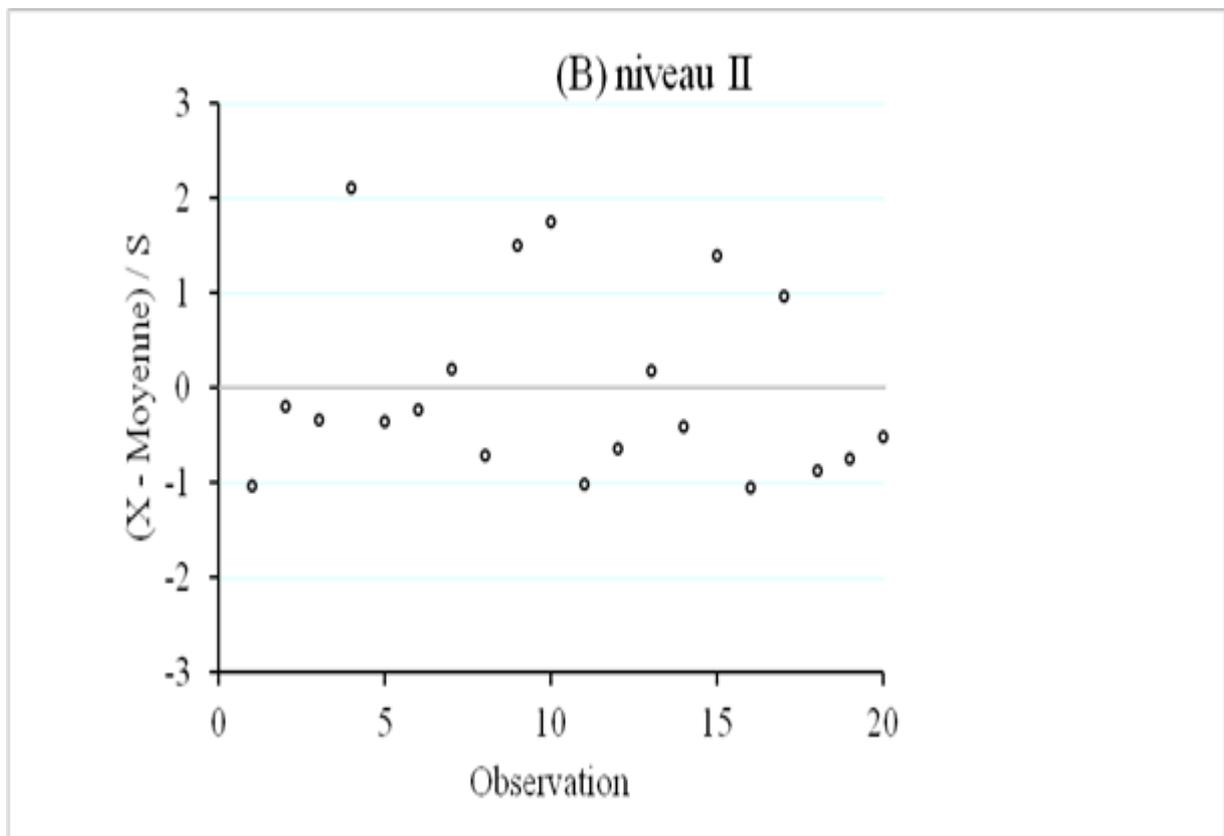
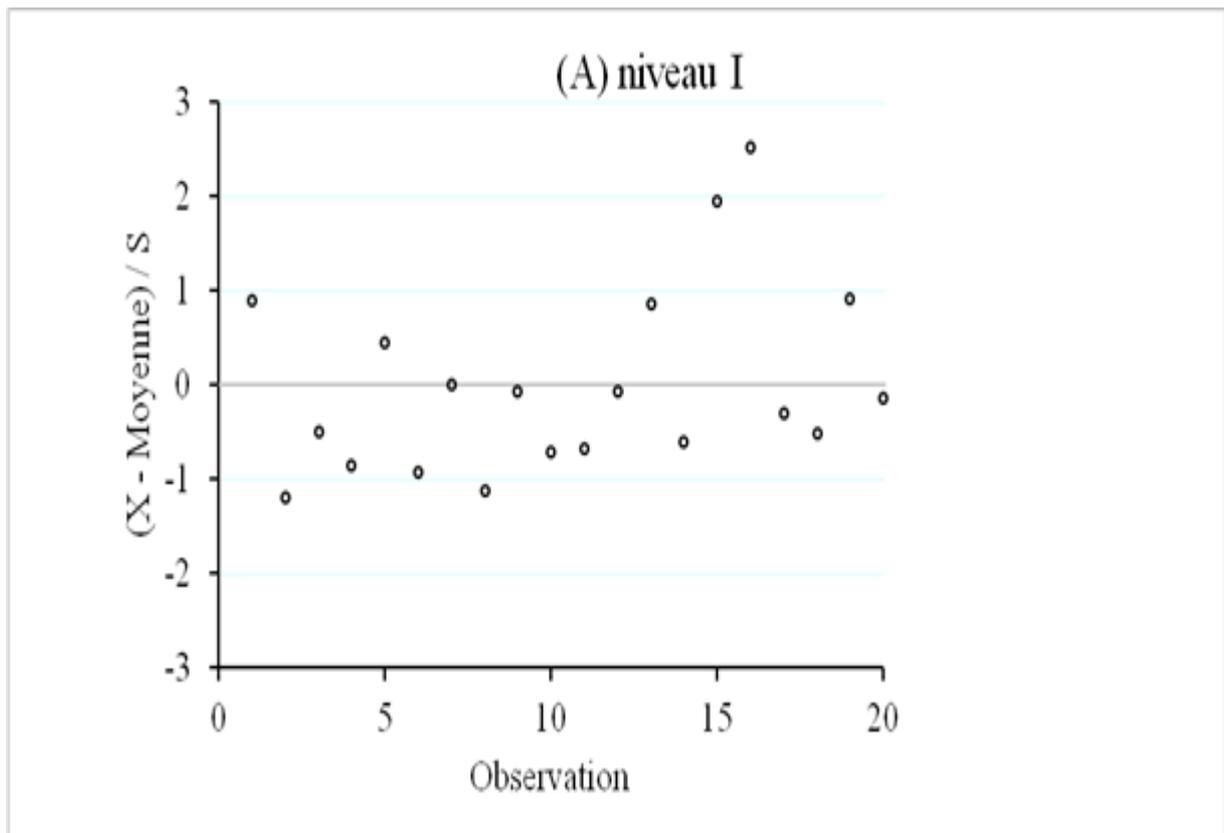


Figure 11 (A, B) : *Distribution des concentrations des deux spécimens de contrôle Vitros performance verifier pour l'évaluation de la reproductibilité de la technique de dosage du sodium par colorimétrie*

4.1.1.5. Justesse de la mesure

L'exploitation des résultats des quarante séries de dosage du sodium (voir annexe IV) est reportée sur le tableau 10.

Tableau IX : Evaluation de la justesse des mesures des deux spécimens de contrôle Vitros performance verifier pour le dosage du sodium par la méthode colorimétrique.

	Spécimen Vitros performance verifier niveau I	Spécimen Vitros performance verifier niveau II
Valeur de référence cible	123,9 mmol/l	144,9 mmol/l
Méthode testée moyenne (n=40)	120,26 mmol/l	140,52 mmol/l
Biais (biais relatif)	-2,94%	-3,02%

4.1.2. Le potassium

4.1.2.1. La limite de détection

Les résultats des trente mesures d'absorbance du blanc de la réaction de dosage du potassium par la méthode colorimétrique (voir annexe I), ont permis d'obtenir :

- ✚ La moyenne = 0,0576 unité d'absorbance
- ✚ le coefficient de variation = 3,4 %
- ✚ l'écart-type des absorbances = 0,002 unité d'absorbance
- ✚ L'absorbance obtenue pour le point zéro du calibrage est de 0,053 unité d'absorbance, et pour le calibrant (5 mmol/l) de 0,35 unité d'absorbance.

La limite de détection du potassium est de : $LD = 3x \frac{0,002x5}{(0,35-0,053)} = 0,1 \text{ mmol/l}$

4.1.2.2. La linéarité

L'exploitation des données obtenues du dosage du potassium par colorimétrie des dilutions successives du spécimen Vitros Performance verifier niveau II (voir annexe III) a fourni les résultats suivants (tableau 11 et figure 15) :

Tableau X : Résultats des mesures des dilutions pour l'étude du domaine de linéarité du dosage du potassium par la méthode colorimétrique.

Dilutions	Moyenne	Forme de Linéarité	Forme de Non Linéarité	Non Linéarité	Non Linéarité %	Objectif de Non Linéarité
1	-0,290	-0,588	-0,357	0,231	-79,7%	-0,015
2	0,010	-0,011	0,043	0,054	540,2%	0,001
3	0,383	0,565	0,507	-0,058	-15,2%	0,019
4	1,013	1,142	1,026	-0,116	-11,4%	0,051
5	1,643	1,719	1,589	-0,130	-7,9%	0,082
6	2,267	2,296	2,184	-0,111	-4,9%	0,113
7	2,847	2,873	2,802	-0,070	-2,5%	0,142
8	3,463	3,449	3,432	-0,018	-0,5%	0,173
9	3,973	4,026	4,062	0,036	0,9%	0,199
10	4,557	4,603	4,682	0,080	1,7%	0,228
11	5,387	5,180	5,283	0,103	1,9%	0,269

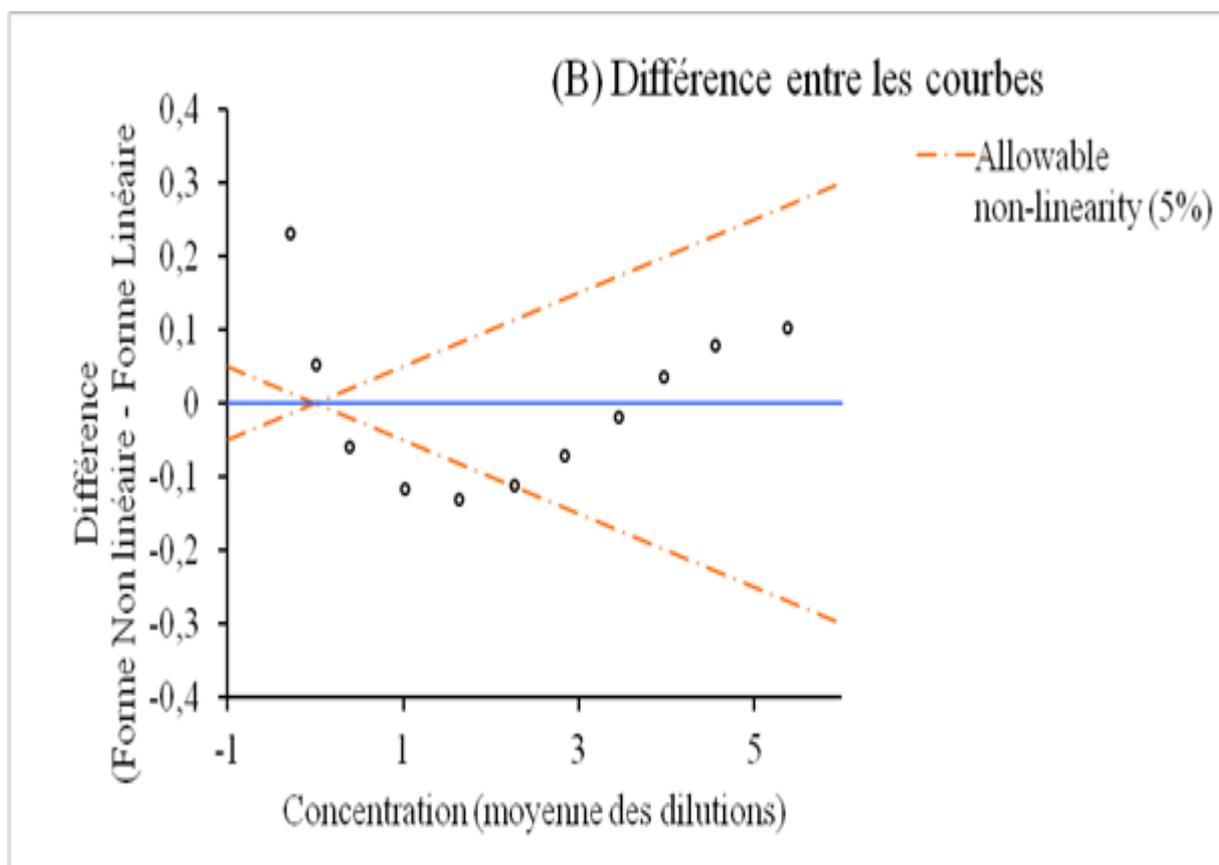
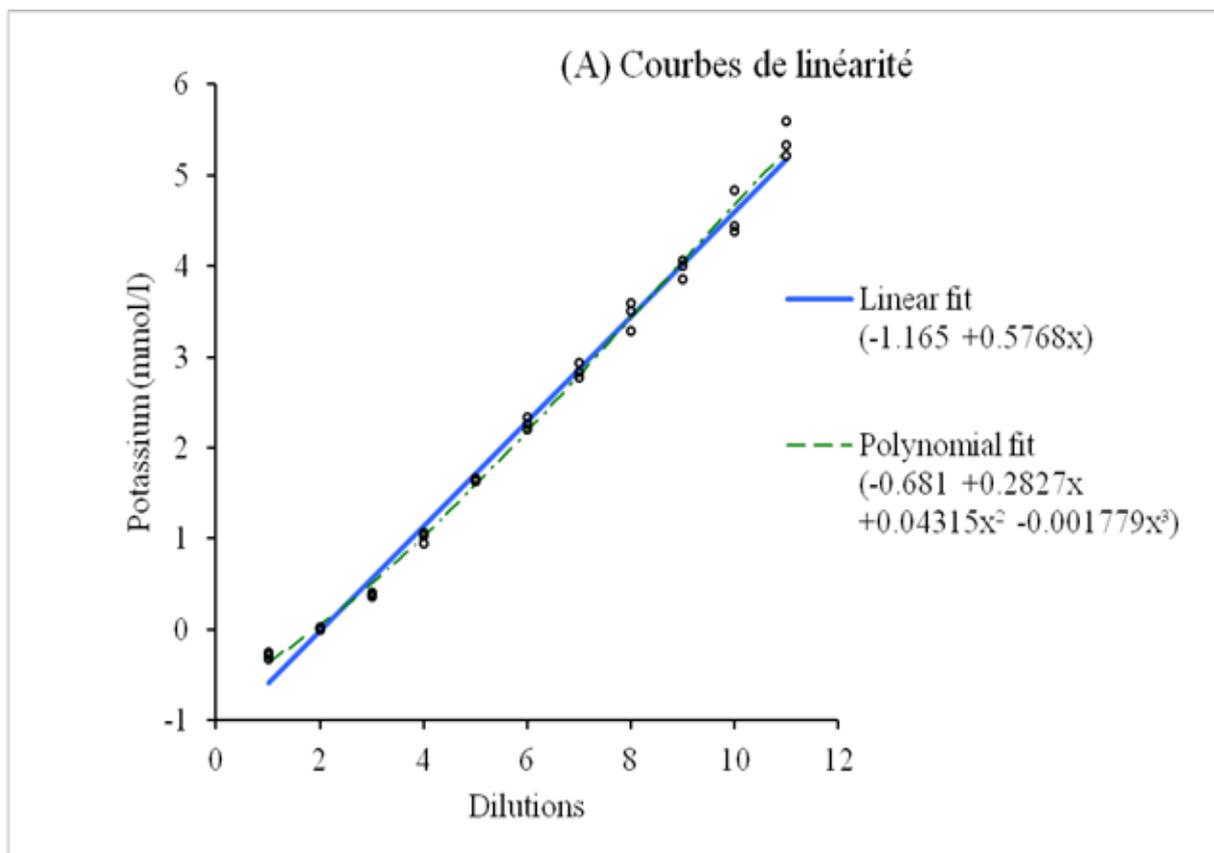


Figure 12 (A, B) : Courbes d'évaluation du domaine de linéarité de la technique de dosage du potassium par colorimétrie

4.1.2.3. La répétabilité

Les quarante séries de dosage des spécimens Vitros performance verifier niveau I et niveau II (voir Annexe IV), ont fournies les résultats suivants (tableau 12 et figure 16).

Tableau XI : Résultats des mesures des deux spécimens de contrôle Vitros performance verifier pour l'étude de la répétabilité du dosage du potassium par la méthode colorimétrique

	Spécimen Vitros performance verifier niveau I	Spécimen Vitros performance verifier niveau II
Nombres de séries	40	40
Concentration cible	2,96 mmol/l	5,48 mmol/l
Moyenne	3,122 mmol/l	5,424 mmol/l
S (Ecart-type)	0,138 mmol/l	0,221 mmol/l
95%CI (Intervalle de confiance de l'Ecart-type)	0,113-0,177 mmol/l	0,181-0,283 mmol/l
CV (coefficient de variation)	4,7%	4,0%

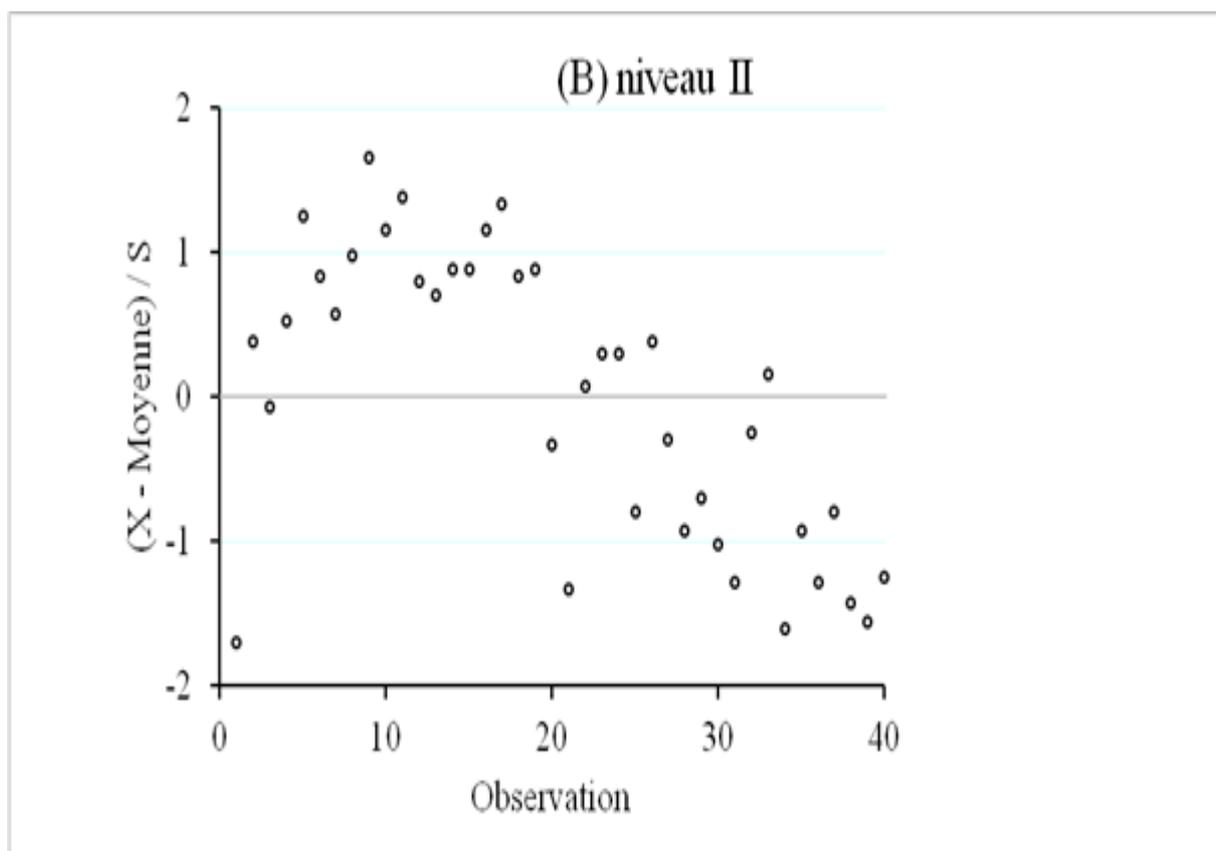
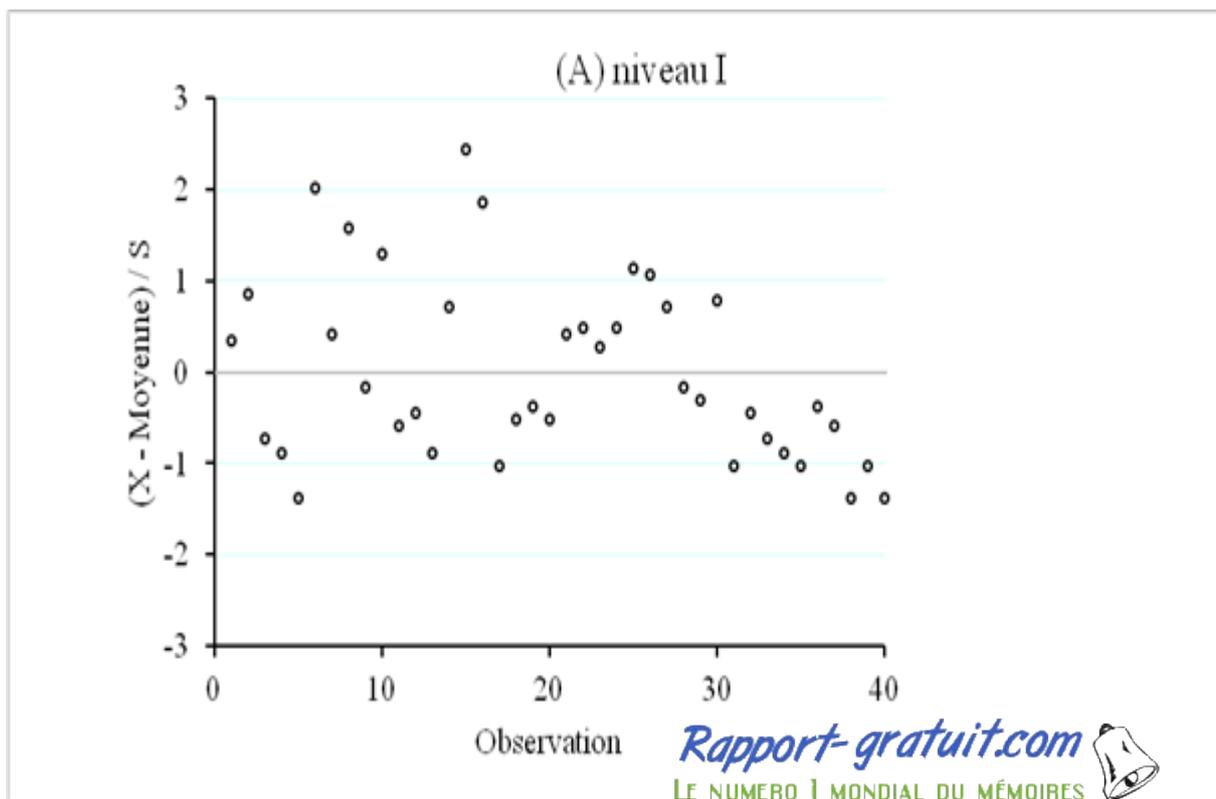


Figure 13 (A, B) : Distribution des concentrations des deux spécimens de contrôle Vitros performance vérifier pour l'évaluation de la répétabilité de la technique de dosage du potassium par colorimétrie

4.1.2.4. La reproductibilité

L'étude des vingt séries de dosage des spécimens Vitros performance verifier niveau I et niveau II (voir annexe VI), a fourni les résultats suivants (tableau 13 et figure 17).

Tableau XII : Résultats des mesures des deux spécimens de contrôle Vitros

performance verifier pour l'étude de la reproductibilité du dosage du potassium par la méthode colorimétrique.

	Spécimen Vitros performance verifier niveau I	Spécimen Vitros performance verifier niveau II
Nombres de séries	40	40
Moyenne	0,189 mmol/l	0,264 mmol/l
S (Ecart-type)	0,116 mmol/l	0,177 mmol/l
95%CI (Intervalle de confiance de l'Ecart-type)	0,088-0,170 mmol/l	0,134-0,258 mmol/l
CV (coefficient de variation)	61,5%	67,0%

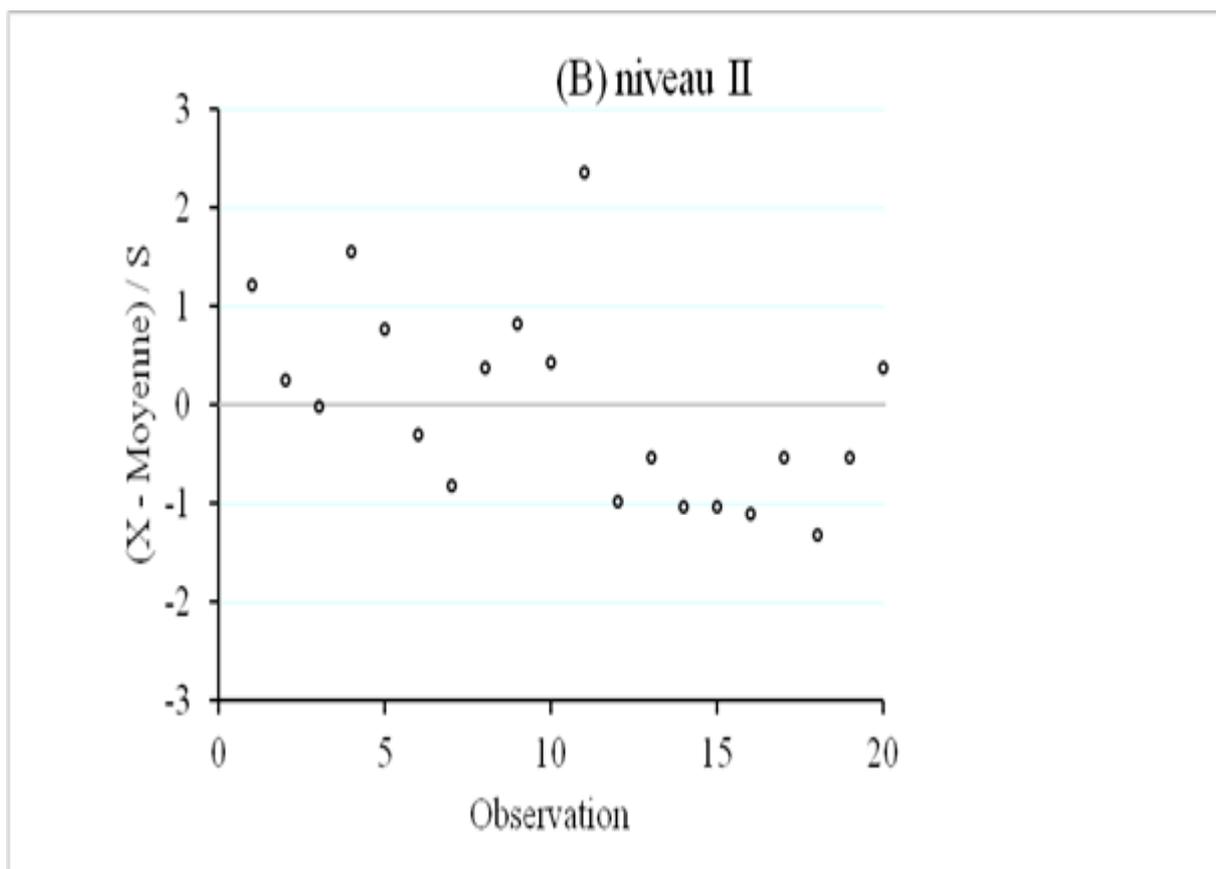
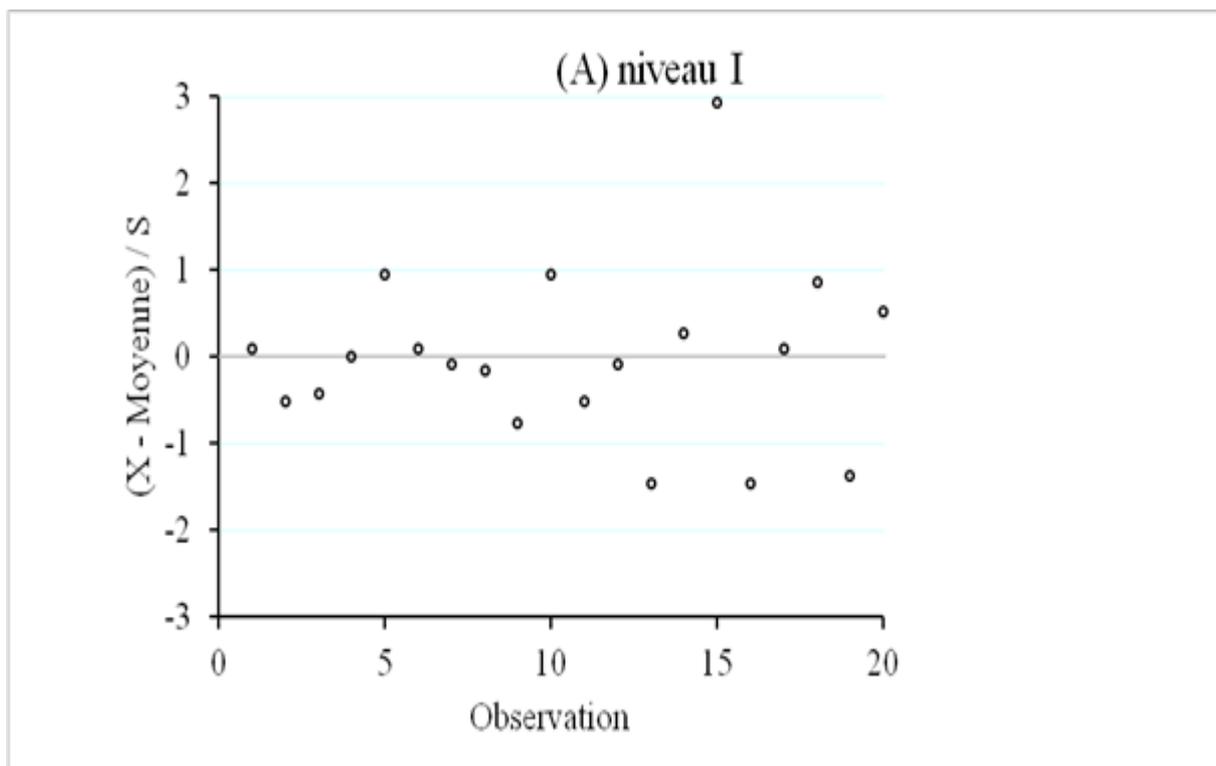


Figure 14 (A, B) : Distribution des concentrations des deux spécimens de contrôle Vitros performance vérifier pour l'évaluation de la reproductibilité de la technique de dosage du potassium par colorimétrie

4.1.2.5. Justesse de la mesure

L'exploitation des résultats des quarante séries de dosage des spécimens Vitros performance verifier (voir annexe IV) est reportée sur le tableau 14.

Tableau XIII : Evaluation de la justesse des mesures des deux spécimens de contrôle Vitros performance verifier pour le dosage du potassium par la méthode colorimétrique.

	Spécimen Vitros performance verifier niveau I	Spécimen Vitros performance verifier niveau II
Valeur de référence cible	2,96 mmol/l	5,48 mmol/l
Méthode testée moyenne (n=40)	3,122 mmol/l	5,424 mmol/l
Biais (biais relatif)	+5,47 %	-1,02 %

4.2. Détermination du coût par test de la méthode

Le coût unitaire du kit de sodium rapid et de potassium liquirapid sont respectivement de 14.300 et 9.500FCFA.

Le salaire mensuel moyen d'un technicien au sein du laboratoire est d'environ 400.000FCFA pour une durée de travail de quatre heures soit 240mn.

Le temps de réalisation du dosage du sodium et du potassium par un technicien est estimé à 15mn soit un pourcentage de 6,25% (15/240) sur son travail global.

L'amortissement de l'appareil qui coûte 2.500.000FCFA est de 41.667FCFA pour une durée de 60 mois.

Le nombre de tests réalisables pour les kits de sodium de 60ml et de potassium de 100ml sont respectivement de 20 et 50 tests pour les prélèvements de 3 ml pour un dosage du sodium et 2 ml pour le potassium.

Toutes les charges indirectes vont être imputées de 6,25%, ce qui nous donne respectivement 25.000 FCFA pour le technicien et 2065 FCFA pour l'amortissement dégressif de l'appareil.

L'eau et l'électricité seront considérées comme des charges marginales et ne seront pas comptabilisées dans le décompte final, ce qui nous revient à 2069FCFA par test pour le sodium et 731FCFA par test pour le potassium.

DISCUSSION

Pour l'évaluation des performances analytiques pour le dosage de l'ionogramme sanguin (sodium, potassium) par la méthode colorimétrique, nous avons choisi de travailler avec des spécimens de contrôle de type Vitros performance verifier avec deux niveaux différents, niveau I et niveau II, en utilisant le protocole de validation de la société française de biologie clinique [22] et la règle de Westgard [35].

Le dosage colorimétrique des ions sodium et potassium a été effectué avec les réactifs Human ; Il a été réalisé en deux temps successifs : une précipitation suivie d'un dosage avec le spectrophotomètre UV-Visible Biosystems BTS 350.

Pour l'analyse des données statistiques, nous avons utilisé le logiciel Analyse-it 2.30 qui permet à la fois de valider mais aussi de faire une comparaison de techniques analytiques [35].

Les limites de détection trouvées sont respectivement de 27,1 mmol/l pour le sodium et 0,10 mmol/l pour le potassium. Ces limites de détection sont très faibles par rapport aux valeurs usuelles ce qui nous permet de réaliser une gamme analytique larges prenant compte des variations physiopathologiques de ces électrolytes.

Pour l'étude du domaine de linéarité du sodium, les moyennes des concentrations des onze dilutions varient de -7,17 à 129,83 mmol/l. L'analyse statistique des résultats (tableau 7) montre que les formes polynômiales de non linéarité de la technique au second et au troisième degré sont statistiquement non significatives. Les moyennes des concentrations des dilutions effectuées s'alignent autour de la droite de linéarité d'équation $y=13,13x-19,41$ (figure 13). Cela traduit une linéarité de la technique acceptable.

Pour l'étude du domaine de linéarité du potassium, les moyennes des concentrations des onze dilutions varient de -0,290 à 5,387 mmol/l. L'analyse

statistique des résultats (tableau 11) montre une courbe polynômiale au troisième degré de non linéarité de la technique avec $y = -0,001779x^3 + 0,0431x^2 - 0,2827x - 0,681$ (Figure 15A : tracée en vert) ; ce qui traduit une non linéarité de la technique colorimétrique du dosage de l'ion potassium. Cependant pour avoir une bonne linéarité de la technique de dosage, on devrait avoir une droite de linéarité $y = 0,5768x - 0,165$ (figure 15A : tracée en bleu). En considérant un risque d'erreur évalué à 5% [23, 27], nous avons essayé de déterminer les limites de linéarité de la technique (figure 15B). Les résultats obtenus montrent seulement une limite basse de linéarité de la technique égale à 2,267 mmol/l ; Pour la limite haute de linéarité, nous prendrons les spécifications du fabricant qui prévoit une limite haute à 10 mmol/l. Cependant, ne pouvant pas donner des domaines de linéarité précis avec nos dilutions, nous allons nous conformer aux spécifications du fabricant qui prédit une linéarité de la technique colorimétrique de dosage des ions sodium et potassium à respectivement 300 mmol/l et 10 mmol/l pour les limites hautes de linéarité. Toutefois les échantillons dont les concentrations dépassent 300 mmol/l de sodium et 10 mmol/l de potassium vont être dilués au demi (1+1) avec respectivement de l'eau distillée et du sérum physiologique (0,9%). Répéter les tests et multiplier les résultats par deux.

Les résultats obtenus par l'étude de la fidélité (répétabilité et reproductibilité) de la technique de dosage de l'ionogramme sanguin (sodium et potassium) par la technique colorimétrique et de l'évaluation de la justesse des mesures seront comparés aux spécifications et normes d'acceptabilité proposées par le groupe de travail de la SFBC [22] et aux critères d'acceptabilité selon la règle de Westgard [35].

Pour le dosage du sodium :

✚ L'étude de la répétabilité de la technique a montré des moyennes de concentration de sodium des spécimens de contrôle Vitros performance verifier I et II au cours des 40 séries de dosage respectivement de 120,26 mmol/l et 140,52 mmol/l. Ces valeurs sont plus basses que les valeurs cibles (niveau I : 123,9 mmol/l et niveau II : 144,9 mmol/l) établies par le fabricant et sont quasi égales aux limites inférieures

de l'intervalle de concentrations (niveau I : 120,9 à 126,9 et niveau II : 140,9 à 148,9 mmol/l).

La distribution des concentrations de sodium des deux spécimens de contrôle sur le diagramme de type Levey-Jennings $((X - \text{Moyenne}) / S)$ montre trois zones : ± 1 , ± 2 , ± 3 (figure 13A et 13B). La majorité des concentrations sont comprises dans la zone ± 2 qui correspond à la zone des seuils d'avertissement. Aucune concentration n'est située au-delà de la zone ± 3 qui correspond à la zone seuil d'alarme. Toute valeur de concentration de spécimen de contrôle qui dépasse la limite ± 3 , est considérée comme non conforme selon la règle de Westgard [35].

Les résultats obtenus sont acceptables selon la règle Westgard [31].

Les coefficients de variation pour les spécimens de contrôle I et II sont respectivement de 7,9% et de 6,3%. Ces valeurs sont largement supérieures aux valeurs de coefficient de variation proposées par la SFBC pour des spécimens à valeurs de concentration correspondantes pour les deux niveaux I et II qui sont respectivement de 1% et de 0,8% [22]. Ces résultats sont invalides selon les spécifications et normes de la SFBC.

🚦 **L'étude de la reproductibilité** des 20 séries de dosage a montré des moyennes de différence de concentration des deux spécimens de contrôle Vitros performance vérifier niveau I et II mesurées en deux temps respectivement de 8,39 mmol/l et 9,19 mmol/l. Les résultats représentés sur un graphique type Levey-Jennings (figure 14A et 14B) sont presque tous situés dans la zone ± 2 . Cela montre que les résultats sont acceptables selon la règle de Westgard [35].

Les coefficients de variation pour les deux niveaux de spécimens de contrôle I et II sont respectivement 82,1% et de 84,3%. Ces valeurs sont très largement élevées par rapport aux valeurs de coefficient de variation proposées par la SFBC pour des spécimens de contrôle à valeurs de concentration correspondantes pour les deux niveaux I et II qui sont respectivement de 1,3% et de 1,1% [22]. Ces résultats sont invalides selon les spécifications et normes de la SFBC.

✚ **L'étude de la justesse des mesures** au cours des 40 séries de dosage des deux spécimens de contrôle a montré des biais relatifs en valeur absolue de 2,94% pour le niveau I et de 3,02% pour le niveau II. Ces erreurs de justesse sont supérieures aux valeurs proposées par la SFBC pour des spécimens de contrôle à valeurs de concentration correspondantes pour les deux niveaux I et II qui sont respectivement de 1,5% et de 1,4% [22].

Pour le dosage du potassium :

✚ **L'étude de la répétabilité** de la technique a montré des moyennes de concentration de potassium des spécimens de contrôle Vitros performance verifier I et II au cours des 40 séries de dosage respectivement de 3,122 mmol/l et de 5,424 mmol/l. Ces valeurs sont proches des valeurs cibles établies par le fabricant (niveau I : 2,96 mmol/l et niveau II : 5,48 mmol/l).

A défaut d'une concentration située dans la zone ± 2 et ± 3 (figure 15A et 15B) ; toutes les moyennes de concentrations de potassium des deux spécimens de contrôles sont distribuées sur le diagramme de type Levey-Jennings $((X - \text{Moyenne}) / S)$. Les résultats sont conformes selon la règle de Westgard [35].

Les coefficients de variation pour les spécimens de contrôle I et II sont respectivement de 4,7% et de 4%.

Ces valeurs sont supérieures aux valeurs de coefficient de variation proposées par la SFBC qui sont respectivement de 1,5% et de 1,2% [22] pour des spécimens à valeurs de concentration correspondantes pour les deux niveaux I et II. Ce qui traduit une non-conformité des résultats aux spécifications et normes de la SFBC.

✚ **L'étude de la reproductibilité** des 20 séries de dosage a montré des moyennes de différence de concentration des deux spécimens de contrôle Vitros performance verifier niveau I et II mesurées en deux temps respectivement de 0,189 mmol/l et 0,264 mmol/l.

A l'exception d'une seule concentration pour les niveaux I et II situées dans la zone ± 2 ± 3 , toutes les résultats représentés sur le graphique de type Levey-Jennings sont

tous situés dans la zone ± 2 . Cela montre que les résultats sont acceptables selon la règle de Westgard [35].

Les coefficients de variation pour les deux niveaux de spécimens de contrôle I et II sont respectivement 61,5% et de 67%. Ces valeurs sont très largement élevées par rapport aux valeurs des coefficients de variation proposées par la SFBC qui sont respectivement de 2% et de 1,6% [22] pour des spécimens de contrôle à valeurs de concentration correspondantes pour les deux niveaux I et II. Ces résultats sont invalides selon les spécifications et normes de la SFBC.

✚ **L'étude de la justesse des mesures** au cours des 40 séries de dosage des deux spécimens de contrôle a montré des biais relatifs en valeur absolue de 5,47% pour le niveau I et de 1,02% pour le niveau II. L'erreur de justesse pour le dosage du potassium dans le spécimen de contrôle niveau I est plus élevée que la limite d'acceptabilité proposée par la SFBC (2,9%) [22], tandis que pour le niveau II l'erreur est inférieure à celle proposée par la SFBC (3,1%).

D'après les données obtenues pour le dosage de l'ionogramme sanguin (sodium et potassium) avec les spécimens de contrôle Vitros performance verifier par la méthode colorimétrique, nous avons constaté que la distribution des résultats selon le diagramme de type Levey-Jennings est acceptable en appliquant la règle de Westgard.

Cependant, les limites d'acceptabilité proposées par le groupe de travail de la SFBC ne nous permettent pas de valider cette technique colorimétrique de dosage de l'ionogramme sanguin (sodium et potassium) du fait de son imprécision notable et des erreurs de justesse qui dépassent les limites proposées à l'exception du dosage du spécimen niveau II pour le potassium.

Le dosage de l'ionogramme sanguin par la méthode colorimétrique est une méthode semi-manuelle, techniquement délicate, comportant plusieurs étapes mais malgré son faible coût de revenu ne peut être proposée comme une méthode alternative de dosage des électrolytes sériques. Cela peut s'expliquer par le fait que :

✚ La technique colorimétrique du dosage de l'ionogramme sanguin est longue.

Elle se fait en deux étapes :

- ✓ Une précipitation des spécimens où on peut essuyer des pertes en électrolytes,
- ✓ Une réaction de coloration souvent instable pour le dosage des ions.

✚ Les spécimens de contrôle utilisés sont des sérums dont les teneurs en électrolytes sont calculées avec les analyseurs d'électrolytes de type Vitros.

✚ Les spécifications et normes d'acceptabilité proposées par la SFBC sont établies sur des techniques de dosage autre que la colorimétrie.

CONCLUSION

L'ionogramme est la composition ionique d'un secteur hydrique. C'est un examen biologique couramment demandé en pratique hospitalière ; elle a pour intérêt principal la détermination des troubles hydro-électrolytiques pouvant entraîner des conséquences sur le métabolisme et la surveillance des apports hydriques par perfusion.

De nombreuses techniques sont utilisées pour la détermination de l'ionogramme, dont les plus fréquentes sont la photométrie de flamme et la potentiométrie. Il faut noter que ces techniques sont onéreuses et utilisent des automates très chers, ce qui fait que les laboratoires à faible revenu tels que trouvés dans les centres de santé sont obligés d'utiliser des analyseurs de routine tel que le spectrophotomètre pour la détermination de leur ionogramme sanguin.

Le travail mené au sein du laboratoire de Biochimie et de Biologie moléculaire consiste à évaluer les performances analytiques de la méthode colorimétrique du dosage de l'ionogramme sanguin (sodium, potassium) à savoir la limite de détection, la linéarité, la fidélité et la justesse des mesures, mais aussi d'évaluer le coût de la méthode pour que cette méthode puisse être validée et rendue accessible à tous les laboratoires.

Les résultats obtenus, exploités par le logiciel Analyse-it 2.30 ne nous a pas permis de valider la méthode avec le protocole de la SFBC malgré une distribution acceptable dans le diagramme de type Levey-Jennings selon la règle de Westgard.

Malgré un faible coût financier, le dosage de l'ionogramme sanguin par la technique colorimétrique ne peut être vulgarisé du fait de son instabilité, elle devrait être réévaluée et comparée à une méthode de référence, d'autant plus qu'elle serait d'un apport capital pour une meilleure prise en charge des patients dans les zones ne disposant que d'un spectrophotomètre et avec un niveau économique bas.

REFERENCES

REFERENCES

1. Biochimie clinique 2ème éd, EM Inter, coordonnateur P Valdiguié, 2000, 340p.
2. Hauhouot-attoungbre M.L et al, Intérêt du ionogramme chez le brûlé thermique grave, Pratique quotidienne, Annales Biologie Clinique 2005, 63(4), 417-21.
3. Diop P.A. et al, Surveillance de l'équilibre électrolytique chez les hémodialysés, Médecine d'Afrique Noire 1996, 43 (10)
4. Froissart M. et al, Evaluation de la fonction rénale : une actualisation, Annales de Biologie clinique 2008, 66(3), 269-75.
5. Eachempati SR: Approach to the Critically Ill Patient. In Critical Care Medicine. Edited by Porter RS. Whitehouse Station, N.J., U.S.A: The Merck Manuals. Merck Sharp & Dohme Corp., a subsidiary of Merck & Co., Inc;:2010-2011
6. Silbemagi S, Despopoulos A Atlas de poche de physiologie, 2^e Éd Pans, Flammanon Médecine-Sciences, 1998
7. H Chemchik, B El Hadj, W Naija, S Souii, N Aissaoui et al. Hyponatrémie en réanimation. Revue D'anesthésie-Réanimation Et de Médecine d'Urgence 2011 ; 3(1): 1-7.
8. SY A. Comparaison de deux méthodes de dosage de la créatinine en milieu hospitalier, Thèse Pharmacie. UCAD/FMPOS. 2000 - N°5
9. ABDI IBRAHIM M. Profil biologique de l'insuffisance rénale chronique : cas de l'ionogramme sanguin et de l'hémogramme dans le service de néphrologie et d'hémodialyse du CHU du point G, Thèse pour obtenir le grade de docteur en médecine, Mali : université de Bamako.
10. Helgerson RC, et al. Host-guest Complexation. 50. Potassium and sodium ion-selective chromogenic ionophores. J Amer Chem Soc 1989;111:6339-50.
11. Kumar A, et al. Chromogenic ionophere-based methods for spectrophotometric assay of sodium and potassium in serum and plasma. Clin Chem 1988;34:1709-12.
12. Berry MN, et al. Enzymatic determination of sodium in serum. Clin Chem 1988; 34:2295-8.
13. Berry MN, et al. Enzymatic determination of potassium in serum. Clin Chem 1989; 35:817-20.
14. Van Pelt J. Enzymatic determination of sodium, potassium and chloride in serum compared with determination by flame photometry, coulometry and ion selective electrodes. Clin Chem 1994; 40:846-7.
15. Mollard JF. 40 ans de gazométrie sanguine et autres analytes de l'urgence. Histoire de la biologie clinique. Annales de Biologie Clinique 2000; 58(2) : 131-40.

16. LE TREUT André, électrolytes et ionogramme, cours module de néphrologie, université de Rennes, département de biochimie et de biologie moléculaire, année 2009-2010.
17. <http://www.memobio.fr/images/bioc/hypona.jpg>
18. <http://www.memobio.fr/images/bioc/hyperna.jpg>
19. Gérard DURAND, Potentiométrie : Définitions et principes généraux ; Les Sélections : Technique de l'ingénieur, Septembre 2010, Réf Internet P 2115.
20. Hubl W, et al. Enzymatic determination of sodium, potassium and chloride in abnormal (hemolyzed, icteric, lipemic, paraproteinemic, or uremic) serum samples compared with indirect determination with ion selective electrodes Clin Chem 1994;40:1528-31
21. <https://moodle.insa-rouen.fr/mod/resource/view.php?id=290>
22. Vassault A. et al, Analyses de biologie médicale : spécification et normes d'acceptabilité à l'usage de la validation de techniques, Annales de Biologie Clinique 1999, 57 (6), 685-95.
23. Giroud C. et al, Recommandation relatives à l'expression de l'incertitude de mesure des résultats quantitatifs en biologie médicale (Document F), Annales de Biologie Clinique 2007, 65 (2), 185-200.
24. Mollard JF, Naudin C, Dumont G, Vassault A, Azzedine MC, Bailly M et les membres de la commission Validation de techniques de la SFBC. Dictionnaire des termes à l'usage de la validation de techniques (glossaire). Ann Biol Clin 1986 ; 44 : 679-85.
25. P. Petitjean, O. Henin, S. Ellias, G. Gruau, Application de l'Electrophorèse Capillaire au dosage des cations et des anions majeurs en solution dans les eaux douces naturelles ; Cahier Technique de GéoScience Rennes, Université de Rennes 1. N°2-2001, ISBN 2-914375-02-6
26. Guide de bonne exécution des analyses de biologie médicale. Décret du 2 novembre 1994, Journal officiel, 4 décembre 1994.
27. Vassaut A, Dumont G, Labbé D. Définition des critères de qualité d'une méthode d'analyse. Le moniteur d'internat 1992 ; 26, 20-33
28. F. Scherrer ; R.C. Boisson et al, État de l'art et validation de techniques : application aux performances de fidélité, Annales de Biologie clinique 2008, 66(6), 721-5.
29. Vassaut A, Hulin A, Chapuzet E, Arnaud J, Giroud C. et les membres du sous-groupe 2 analytique de la SFBC. Vérification / validation des performances d'une méthode d'analyse. Ann Biol Clin 2010 ; 68 : 247-294
30. Vassaut A, Grafmeyer D, Naudin C, et al et les membres de la commission « validation de technique » de la SFBC. Protocole de validation de techniques (Documents A et B). Ann Biol Clin 1986 ; 46 : 679- 745
31. LAB GTA 04, 2004. Guide de validation des méthodes en biologie médicale. COFRAC, 2004

32. YAZI Moussa, cours de comptabilité analytique, DSES Economie de la Santé CESAG Dakar, 2007
33. <http://www.unit.eu/cours/kit-gestion-ingenieur/Chapitre-3/Compta-gestion-ingenieur/general/toc.html>
34. Analyse-it for Microsoft Excel (version 2.30), Analyse-it Software, Ltd. <http://analyse-it.com/>; 2012.
35. Westgard J.O, Barry P.L., Hunt M.R., Groth T. A multi-rule Shewhart chart for quality control in clinical chemistry, Clin Chem., 1981, 27(1), 493-501.

ANNEXES

Annexe I : Résultats des 30 mesures de l'absorbances des blancs de réactif du sodium et du potassium

Echantillons	Absorbances blanc réactif sodium	Absorbance blanc réactif potassium
1	0,789	0,055
2	0,772	0,056
3	0,782	0,056
4	0,783	0,055
5	0,784	0,056
6	0,783	0,057
7	0,783	0,057
8	0,784	0,057
9	0,784	0,056
10	0,783	0,055
11	0,821	0,056
12	0,826	0,055
13	0,838	0,057
14	0,828	0,059
15	0,827	0,059
16	0,827	0,062
17	0,827	0,057
18	0,828	0,058
19	0,827	0,059
20	0,828	0,061
21	0,831	0,061
22	0,831	0,060
23	0,831	0,060
24	0,832	0,060
25	0,832	0,057
26	0,838	0,057
27	0,832	0,059
28	0,833	0,057
29	0,849	0,057
30	0,833	0,057

Annexe II : résultats du dosage du sodium des dilutions suivantes

Expression en % de spécimen Vitros performances niveau II	0%	10%	20%	30%	40%	50%	60%	70%	80%	90%	100%
Diluant pour spécimen performances Vitros (ml)	1	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1	0
Spécimens Vitros performances niveau II	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1
Résultats en mmol/l											
Série 1	5	19,3	34,3	42	49,3	70,4	74,8	87,8	98,1	108,2	118,8
Série 2	-22,7	-3,6	12,4	24,9	42,9	59,6	74,2	85,4	106,7	113,3	137,7
Série 3	-3,8	-4	22,4	36,3	52,8	34,8	80,3	97,2	70,9	99,8	133

Annexe III : résultats du dosage du potassium des dilutions suivantes

Expression en % de spécimen Vitros performances niveau II	0%	10%	20%	30%	40%	50%	60%	70%	80%	90%	100%
Diluant pour spécimen performances Vitros (ml)	1	0,9	0,8	0,7	0,6	0,5	0,4	0,3	0,2	0,1	0
Spécimens Vitros performances niveau II	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1
Résultats en mmol/l											
Série 1	0,29	0,01	0,36	0,94	1,63	2,2	2,84	3,29	3,85	4,39	5,22
Série 2	-0,33	0,02	0,38	1,03	1,64	2,26	2,77	3,06	4,06	4,84	5,6
Série 3	-0,25	0	0,41	1,07	1,66	2,34	2,93	3,5	4,01	4,44	5,34

Annexe IV : Résultats des 40 séries de dosage du sodium et du potassium

Série	Sodium		Potassium	
	Spécimen Vitros performances niveau I	Spécimen Vitros performances niveau II	Spécimen Vitros performances niveau I	Spécimen Vitros performances niveau II
1	113	141	3,17	5,05
2	126,8	148,3	3,24	5,51
3	127,3	142,2	3,02	5,41
4	108,5	145,4	3	5,54
5	105,8	153,7	2,93	5,7
6	109,6	146,3	3,4	5,61
7	109,6	120,3	3,18	5,55
8	105,3	130,08	3,34	5,64
9	130,1	149,9	3,1	5,79
10	123,5	146,4	3,3	5,68
11	127,6	141,6	3,04	5,73
12	127	146,2	3,06	5,6
13	132,3	149,2	3	5,58
14	111	142,8	3,22	5,62
15	117,3	151,2	3,46	5,62
16	111,6	146,9	3,38	5,68
17	118	121	2,98	5,72
18	104,6	131,4	3,05	5,61
19	122,2	150,7	3,07	5,62
20	127	147,2	3,05	5,35
21	126,8	139,8	3,18	5,13
22	126,1	140,6	3,19	5,44
23	128,8	142,8	3,16	5,49
24	109,8	119,8	3,19	5,49
25	116,6	147,3	3,28	5,25
26	103,5	138,9	3,27	5,51
27	121,3	131	3,22	5,36
28	126,2	134,5	3,1	5,22
29	109,7	129,1	3,08	5,27
30	116,6	123,6	3,23	5,2
31	123	142,9	2,98	5,14
32	134	150,4	3,06	5,37
33	143,1	138,6	3,02	5,46
34	114,1	148,8	3	5,07
35	138,5	131,2	2,98	5,22
36	129,3	147,9	3,07	5,14
37	115	137,7	3,04	5,25
38	121,3	133,9	2,93	5,11
39	124,4	147,3	2,98	5,08
40	124,1	142	2,93	5,15

Annexe V : Résultats des 20 séries de dosage du sodium

séries	Sodium					
	Spécimen Vitros performances niveau I			Spécimen Vitros performances niveau II		
	Ia	Ib	Ia-Ib	IIa	IIb	IIa-IIb
1	113	127,6	14,6	141	139,8	1,2
2	126,8	127	0,2	148,3	140,6	7,7
3	127,3	132,3	5	142,2	142,8	6,6
4	108,5	111	2,5	145,4	119,8	25,6
5	105,8	117,3	11,5	153,7	147,3	6,4
6	109,6	111,6	2	146,3	138,9	7,4
7	109,6	118	8,4	120,3	131	10,7
8	105,3	104,6	0,7	130,8	134,5	3,7
9	130,1	122,2	7,9	149,9	129,1	20,8
10	123,5	127	3,5	146,4	123,6	22,8
11	123	126,8	3,8	141,6	142,9	1,3
12	134	126,1	7,9	146,2	150,4	4,2
13	143,1	128,8	14,3	142,2	138,6	10,6
14	114,1	109,8	4,3	142,8	148,8	6
15	138,5	116,6	21,9	151,2	131,2	20
16	129,3	103,5	25,8	146,9	147,9	1
17	115	121,3	6,3	121	137,7	16,7
18	121,3	126,2	4,9	131,4	133,9	2,5
19	124,4	109,7	14,7	150,7	147,3	3,4
20	124,1	116,6	7,5	147,2	142	5,2

Annexe VI : Résultats des 20 séries de dosage du potassium

séries	Potassium					
	Spécimen Vitros performances niveau I			Spécimen Vitros performances niveau II		
	Ia	Ib	Ia-Ib	IIa	IIb	IIa-IIb
1	3,18	2,98	0,2	5,62	5,14	0,48
2	3,19	3,06	0,13	5,68	5,37	0,31
3	3,16	3,02	0,14	5,72	5,46	0,26
4	3,19	3	0,19	5,61	5,07	0,54
5	3,28	2,98	0,3	5,62	5,22	0,4
6	3,27	3,07	0,2	5,35	5,14	0,21
7	3,22	3,04	0,18	5,13	5,25	0,12
8	3,1	2,93	0,17	5,44	5,11	0,33
9	3,08	2,98	0,1	5,49	5,08	0,41
10	3,23	2,93	0,3	5,49	5,15	0,34
11	3,17	3,04	0,13	5,73	5,05	0,68
12	3,24	3,06	0,18	5,6	5,51	0,09
13	3,02	3	0,02	5,58	5,41	0,17
14	3	3,22	0,22	5,62	5,54	0,08
15	2,93	3,46	0,53	5,62	5,7	0,08
16	3,4	3,38	0,02	5,68	5,61	0,07
17	3,18	2,98	0,2	5,72	5,55	0,17
18	3,34	3,05	0,29	5,61	5,64	0,03
19	3,1	3,07	0,03	5,62	5,79	0,17
20	3,3	3,05	0,25	5,35	5,68	0,33

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des maîtres de cette école, de mes chers condisciples, je promets

Et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur de la probité dans l'exercice de la médecine.

Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et je n'exigerai jamais un salaire au dessus de mon travail.

Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe; ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Respectueux et reconnaissant envers mes maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçu de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

Vu
Le Doyen

Vu
Le Président de jury

Vu et permis d'imprimer
Le Recteur de l'Université Cheikh Anta DIOP
DAKAR