



ORIGINAL ARTICLE

In vitro analytical interference of L-ascorbic acid in enzymatic assays based on the Trinder reaction

Mohamed Abdou OUDRER^{1,2}, Oussama FERHAT^{1,2}, Ikram TERBECHÉ^{1,2}, Mustapha ZENDJABIL^{1,2}, Amel Soulef SAADI- OUSLIM^{1,2}

ABSTRACT

Introduction: Ascorbic acid, a water-soluble compound with antioxidant properties, can interfere with several enzymatic methods used in clinical biochemistry. It can consume hydrogen peroxide, thereby affecting the Trinder reaction, a crucial step in the assessment of glucose, total cholesterol, and triglycerides. This study aims to evaluate the impact of this interference in two different biological matrices. **Materials and Methods:** This is an in vitro experimental study with an analytical purpose, conducted in the Biochemistry Department of the University Hospital Center of Oran, Algeria. The study evaluates the interference of L-ascorbic acid on the measurement of three commonly prescribed biochemical parameters: total cholesterol, glucose, and triglycerides. Two biological matrices were used: a commercial control serum and a pool of human serum. For each analyte, increasing concentrations of L-ascorbic acid were prepared and added to each of the studied biological matrices, then analyzed. **Results:** Results showed negative and significant interference of ascorbic acid with glucose and total cholesterol assays. A marked decrease in measured concentrations was observed starting from a molar ratio of 0.065:1 for glucose and 0.0325:1 for total cholesterol, reaching up to 100% interference at higher concentrations in both biological matrices. In contrast, ascorbic acid showed minimal interference with the triglycerides assay, even at high concentrations. **Conclusion:** Ascorbic acid significantly interferes with the measurement of glucose and total cholesterol, highlighting the importance of considering this interference in clinical biochemistry, especially in patients receiving ascorbic acid supplementation.

Keywords: L-ascorbic acid, interference, glucose, total cholesterol, triglycerides

1. Service de Biochimie Laboratoire Central CHU-Oran. 2. Faculté de Médecine d'Oran – Algérie.

Received: 28 Jul 2025

Accepted: 18 Aug 2025

Correspondance to: Mohamed Abdou OUDRER
E-mail : abdououdrer@gmail.com

1. INTRODUCTION

L'acide L-ascorbique (vitamine C) est une vitamine hydrosoluble essentielle à de nombreuses fonctions biologiques. En plus de son rôle de cofacteur dans la synthèse du collagène, des neurotransmetteurs et de la carnitine, elle favorise l'absorption du fer [1] et possède d'importantes propriétés antioxydantes [2]. Ne pouvant être synthétisée par l'organisme, son apport quotidien par l'alimentation ou la supplémentation est indispensable [3].

Sur le plan chimique, l'acide L-ascorbique est un agent réducteur, c'est-à-dire qu'elle a la capacité de céder des électrons [4]. Cette propriété lui permet d'interférer avec la réaction de Trinder, laquelle constitue une étape clé dans plusieurs méthodes analytiques

couramment utilisées pour le dosage de paramètres biologiques de routine [5]. Cette réaction repose sur l'action d'une enzyme peroxydase, dont le substrat est le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , produit en quantité proportionnelle à la concentration de l'analyte dosé lors des étapes initiales de ces méthodes analytiques [6,7].

L'acide L-ascorbique consomme le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 par une réaction d'oxydo-réduction [8], entraînant ainsi une diminution de sa concentration. Or, cette molécule est indispensable à la formation des chromophores détectés par spectrophotométrie. La réduction du peroxyde d'hydrogène limite la formation des chromophores, ce qui conduit à une sous-estimation des concentrations de l'analyte mesuré. Ce phénomène a été mis en évidence dans le dosage des triglycérides (TG), du cholestérol total (CT) et du glucose (Glu) [9].

En pratique clinique, le dosage de ces paramètres biochimiques est couramment prescrit pour le diagnostic et le suivi des anomalies métaboliques [10] [11].

Cette étude a pour principal objectif d'évaluer l'interférence analytique de l'acide L-ascorbique sur le dosage de ces paramètres biochimiques, et de comparer l'intensité de cet effet au sein de deux matrices biologiques distinctes.

2. MATÉRIELS ET MÉTHODES

Type d'étude

Cette étude expérimentale *in vitro*, à visée analytique, a été menée au sein du service de biochimie du Centre Hospitalo-Universitaire d'Oran (Algérie) du 15 mai 2025 au 18 juin 2025. Trois paramètres biochimiques couramment prescrits en pratique clinique ont été analysés : le cholestérol total, le glucose et les triglycérides.

Protocole expérimental

Deux types de matrices biologiques ont été utilisés pour chacun des paramètres étudiés : un sérum de contrôle commercial Humatrol N (*Human*[®], Wiesbaden, Germany), préparé conformément aux instructions du fabricant, et un pool de sérum humain, exempt d'hémolyse, d'ictère et de turbidité apparente. Le pool a été constitué à partir de vingt échantillons sanguins, prélevés sur tubes secs, provenant de volontaires sains âgés entre 18 et 45 ans. Après un temps de coagulation de 30 minutes, les échantillons ont été centrifugés à 1500 x g pendant 10 minutes à l'aide d'une centrifugeuse DLAB DM0412S (*DLAB Scientific Instrument Inc.*, États-Unis). Des volumes égaux (250 μ L) de chaque sérum ont ensuite été prélevés et regroupés afin de constituer un pool d'un volume total de 5 mL. Celui-ci a été homogénéisé par agitation douce suivie d'une centrifugation complémentaire à 500 x g pendant 5 minutes. Les deux matrices biologiques ont été utilisées immédiatement après préparation, sans stockage préalable.

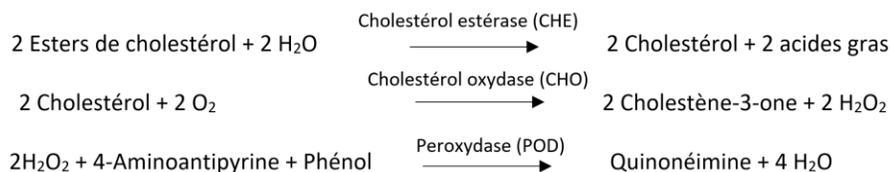
Pour chaque analyte étudié, huit aliquotes de 500 μ L ont été préparées pour chaque matrice biologique à concentrations connues : glucose 1,14 g/L et 1,11 g/L, cholestérol total 1,59 g/L et 1,57 g/L, triglycérides 1,10 g/L et 1,33 g/L, respectivement dans le sérum de contrôle et le pool de sérum. L'acide L-ascorbique pur, sous forme de poudre, a été dissous dans de l'eau distillée immédiatement avant utilisation. Des solutions d'acide L-ascorbique à concentrations croissantes ont ensuite été préparées séparément, puis ajoutées aux aliquotes des différentes matrices en utilisant un volume constant de 500 μ L, afin de maintenir un volume final identique de 1000 μ L dans toutes les conditions expérimentales. Les concentrations finales d'acide L-ascorbique variaient de 0 g/L (échantillon témoin, auquel 500 μ L d'eau distillée ont été ajoutées) jusqu'à atteindre un rapport molaire (RM) maximal de 1:1 avec le glucose et le cholestérol total, et de 3:1 avec les triglycérides.

Après un temps d'incubation de 15 minutes à température ambiante, les concentrations des analytes ont été mesurées à l'aide des automates Humastar 600 (*Human*[®], Wiesbaden, Allemagne) pour le glucose et AU 480 (*Beckman Coulter*[®] Inc., Californie, États-Unis) pour le cholestérol total et les triglycérides, selon les recommandations techniques des fabricants. Chaque condition expérimentale, correspondant à une concentration définie d'acide L-ascorbique, a été analysée en triplicat pour chaque paramètre étudié, garantissant ainsi la robustesse et la reproductibilité des mesures obtenues. Les concentrations finales des analytes ont été corrigées pour tenir compte de la dilution induite par l'ajout de la solution d'acide L-ascorbique, un facteur de dilution de deux ayant été appliqué à l'ensemble des mesures.

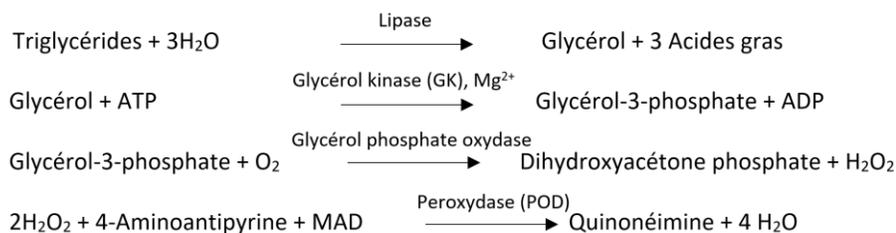
Méthodes de dosage

Les méthodes de dosage employées sont basées sur des réactions enzymatiques de type Trinder, impliquant une oxydation catalysée par des oxydases spécifiques, suivie par la formation d'un chromophore détecté par spectrophotométrie entre 500 et 520 nm.

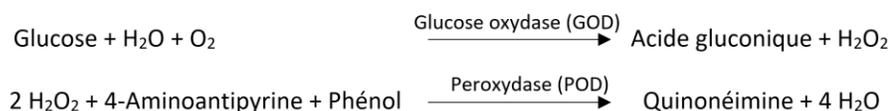
Dosage du Cholestérol total [12] [13] [14] : sur AU 480 (Beckman Coulter® Inc., Californie, États-Unis)



Dosage des triglycérides [15] [6] [14]: sur AU480 (Beckman Coulter® Inc., Californie, États-Unis)



Dosage du Glucose [16] [14] : sur Humastar 600 (Human®, Wiesbaden, Allemagne)



Analyse statistique

Les résultats ont été exprimés en valeurs absolues et/ou en pourcentage d'interférence par rapport aux témoins. Une analyse statistique a été réalisée pour chaque paramètre en utilisant les tests de corrélation de Spearman et de Pearson. Le seuil de signification statistique a été fixé à $p < 0,05$. Les représentations graphiques ont été générées à l'aide du logiciel Python 3.13.0. La correction des multiples comparaisons a été effectuée selon la méthode de Holm-Bonferroni, avec un seuil initial de signification fixé à $p < 0,0167$ ($0,05/3$).

3. RÉSULTATS

L'effet de l'acide L-ascorbique sur le dosage du glucose

Les résultats de l'interférence de l'acide L-ascorbique sur la mesure du glucose, dans le sérum de contrôle commercial et dans le pool de sérum, sont présentés dans les Figures 1, 4 et 5. On observe une diminution progressive de la concentration de glucose mesurée avec l'augmentation de la concentration d'acide L-ascorbique ajoutée, indiquant un effet d'interférence important. Dans le sérum de contrôle commercial, aucune interférence n'est observée jusqu'à un rapport molaire de 0,065:1 où une interférence modérée de 2,7% est remarquée, atteignant 97 % pour un rapport molaire de 1:1. Les données du pool de sérum révèlent une absence d'interférence à un rapport molaire de 0,0325:1, mais une augmentation significative d'interférence de 9,9 % est constatée à partir du rapport molaire de 0,065:1, pour atteindre 98 % à un rapport molaire de 1:1. Ces données montrent une tendance claire à la diminution de la concentration de glucose mesurée sous l'effet de l'acide L-ascorbique dans les deux matrices biologiques, selon une évolution similaire.

L'effet de l'acide L-ascorbique sur le dosage du cholestérol total

Les résultats relatifs à l'interférence de l'acide L-ascorbique sur la mesure du cholestérol total, dans le sérum de contrôle commercial et dans le pool de sérum, sont présentés dans les Figures 2, 4 et 5. Une diminution progressive de la concentration de cholestérol total mesurée est observée avec l'augmentation de la concentration d'acide L-ascorbique ajoutée, témoignant d'un effet d'interférence marqué. Dans le sérum de contrôle commercial, une interférence de 5 % est détectée dès un rapport molaire de 0,0325:1. Cette

interférence augmente progressivement pour atteindre 100 % à un rapport molaire de 1:1. Dans le pool de sérum, l'interférence commence à 7,6 % pour un rapport molaire de 0,0325:1, s'élève à 92,4 % à un rapport de 0,75:1 atteignant 100 % à un rapport molaire de 1:1. Ces résultats mettent en évidence une tendance nette à la baisse de la concentration de cholestérol total mesurée dans les deux matrices biologiques, selon une évolution similaire en fonction de l'augmentation du rapport molaire.

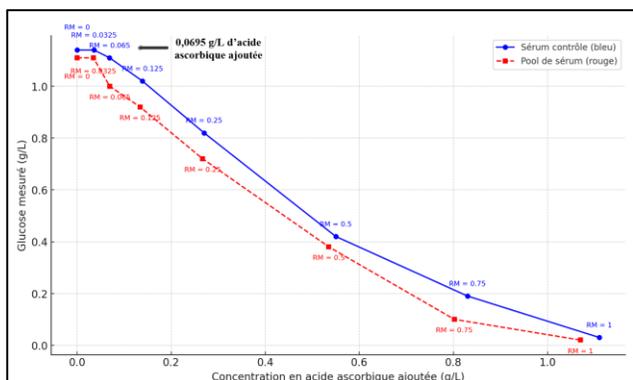


Figure 1. Effet de l'acide L-ascorbique sur le dosage du glucose dans les deux matrices biologiques.

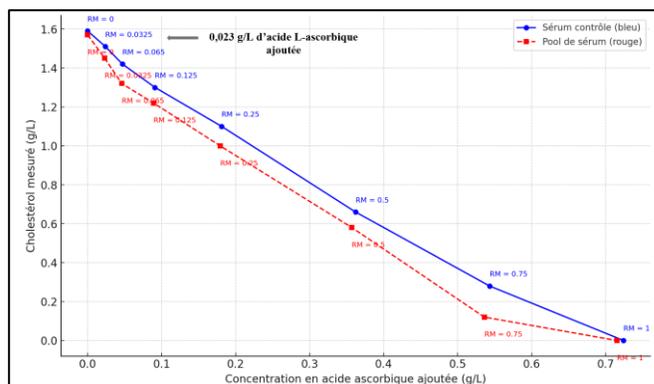


Figure 2. Effet de l'acide L-ascorbique sur le dosage du cholestérol total dans les deux matrices biologiques.

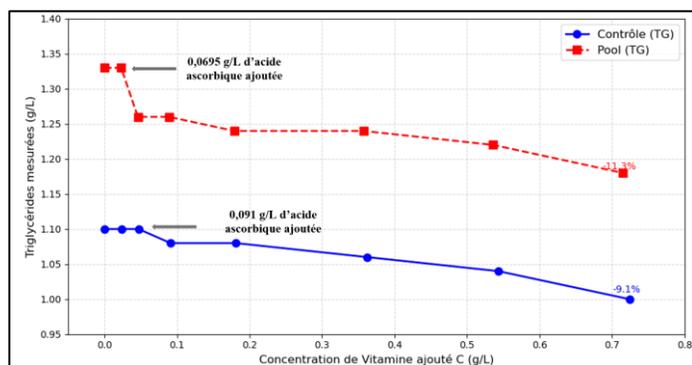


Figure 3. Effet de l'acide L-ascorbique sur le dosage des triglycérides dans les deux matrices biologiques.

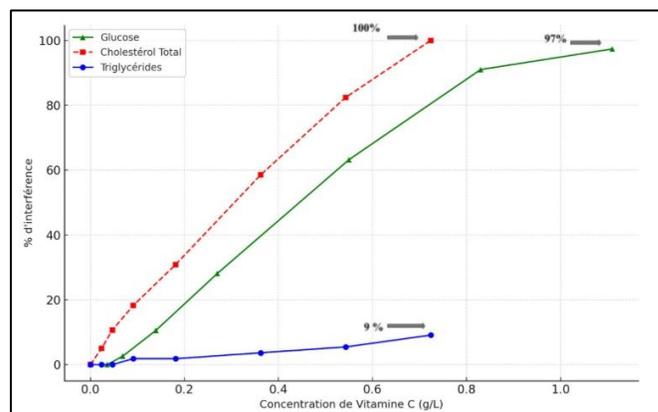


Figure 4. Pourcentage d'interférence de l'acide L-ascorbique sur le dosage des trois paramètres dans le sérum du contrôle commercial.

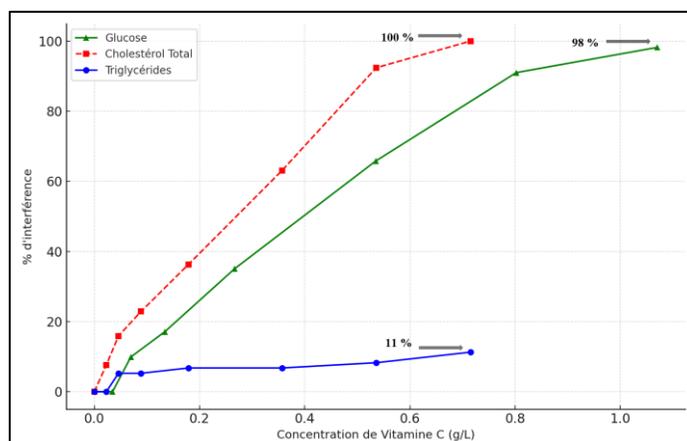


Figure 5. Pourcentage d'interférence de l'acide L-ascorbique sur le dosage des trois paramètres dans le pool de sérum.

L'effet de l'acide L-ascorbique sur le dosage des triglycérides

Les Figures 3, 4 et 5 présentent les résultats relatifs à l'interférence de l'acide L-ascorbique sur la mesure des triglycérides dans le sérum de contrôle commercial et dans le pool de sérum. Dans le sérum de contrôle commercial, aucune interférence n'est observée jusqu'à un rapport molaire de 0,4:1 où une légère interférence de 1,82 % est notée, atteignant un maximum de seulement 9 % à un rapport molaire de 3,18:1. Dans le pool de sérum, une interférence de 5,26 % est enregistrée dès un rapport molaire de 0,326:1 progressant lentement jusqu'à atteindre 11 % à un rapport de 2,619:1. Ces résultats montrent une diminution modérée de la concentration mesurée des triglycérides dans les deux matrices biologiques, mais uniquement observée à des rapports molaires nettement supérieurs à 1:1. Dans les deux matrices biologiques, et contrairement aux observations faites pour le glucose et le cholestérol total, les Figures 4 et 5 montrent que l'interférence de l'acide L-ascorbique sur le dosage des triglycérides est nettement moins prononcée.

Tests statistiques

Une estimation post hoc de la puissance statistique a été réalisée afin de vérifier l'adéquation de la taille d'échantillon retenue. Les résultats indiquent, pour le glucose et le cholestérol total, des puissances supérieures à 95 % ($\alpha = 0,05$) pour détecter des biais respectifs de -2,6 % et -5 % (apparition de l'interférence). Pour les triglycérides, la puissance pour détecter un biais ≤ 5 % est plus restreinte ; cependant, l'effet maximal observé 11 % reste détectable avec une puissance supérieure à 80 %. Ces résultats confirment la pertinence de la configuration expérimentale retenue, incluant huit niveaux de concentration de l'interférent, testés sur deux matrices biologiques et analysés en triplicat, pour répondre aux objectifs de l'étude. Cette méthodologie s'inscrit dans les recommandations du CLSI EP07 [17], norme de référence internationale pour l'évaluation des interférences analytiques, qui préconise la mise en œuvre d'un protocole exploratoire (screening) suivi d'une analyse dose-réponse sur plusieurs concentrations de l'interférent.

Les coefficients de corrélation de Pearson rapportés dans le Tableau 1, entre la concentration d'acide L-ascorbique et les valeurs mesurées des différents analytes, révèlent une relation négative, dose-dépendante et très forte pour le glucose (r_c et r_p proches de -1), ainsi que pour le cholestérol total. En revanche, pour les triglycérides, la corrélation est plus faible pour les deux matrices biologiques.

Tableau 1. Résultats des tests statistiques

Paramètre	Coefficient de corrélation de Pearson		Réduction maximale observée		Pentes de régression		Similitude de l'effet entre les deux matrices biologiques	
	Sérum de contrôle commercial r_c	Pool de sérum r_p	Sérum de contrôle commercial	Pool de sérum	P_c (sérum de contrôle commercial)	P_p (pool de sérum)	Valeur (p)	Valeur (p corrigée) par méthode de Holm-Bonferroni
Triglycérides	-0,8830	-0,8482	9%	11%	-2,9 (%/M)	-3,3 (%/M)	0,004	0,012
Glucose	-0,9896	-0,9837	97%	98%	-112 (%/M)	-108 (%/M)	0,719	0,719
Cholestérol total	-0,9963	-0,9871	100%	100%	-103(%/M)	-100 (%/M)	0,317	0,634

Le Tableau 1 met en évidence des niveaux très variables d'interférence de l'acide L-ascorbique selon le paramètre biochimique dosé. Une réduction quasi complète des concentrations mesurées est observée pour le glucose et le cholestérol total atteignant environ 100 % dans les deux matrices à des concentrations élevées d'acide L-ascorbique, traduisant une forte sensibilité de ces méthodes de dosage à l'effet réducteur de l'acide L-ascorbique. En revanche, la diminution maximale observée pour les triglycérides ne dépasse pas 10 %, suggérant une réactivité nettement plus faible vis-à-vis de l'acide L-ascorbique. L'analyse des pentes de régression des pourcentages d'interférence dans les deux matrices, présentées dans le Tableau 1, en fonction de la concentration d'acide L-ascorbique, révèle une sensibilité analytique nettement plus élevée pour le glucose et le cholestérol total avec des pentes avoisinant les -100 %/M, comparativement aux triglycérides ($P_c \approx -2,9$ %/M ; $p_p \approx -3,3$ %/M), confirmant que le glucose et le cholestérol total sont bien plus sensibles à l'interférence de l'acide L-ascorbique que les triglycérides. Ces pentes négatives indiquent une interférence négative.

Aucune différence statistiquement significative n'a été observée entre les deux matrices biologiques (sérum de contrôle et pool de sérum) pour le glucose ($p_{\text{corrigée}} = 0,719$), le cholestérol total ($p_{\text{corrigée}} = 0,634$) et les triglycérides ($p_{\text{corrigée}} = 0,012$), comme présenté dans le Tableau 1.

4. DISCUSSION

Les résultats de cette étude confirment que l'acide L-ascorbique, en raison de son pouvoir réducteur [4], perturbe significativement le dosage de certains analytes couramment utilisés en pratique biologique. Cette interférence analytique s'explique par sa capacité à consommer le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , molécule essentielle à la réaction de Trinder utilisée dans ces méthodes colorimétriques [5].

Pour le glucose et le cholestérol total, l'interférence observée est particulièrement marquée. Une diminution progressive et dose-dépendante des concentrations mesurées est constatée dès les faibles concentrations d'acide L-ascorbique, jusqu'à atteindre une inhibition quasi complète à des rapports molaires proches de 1:1. L'analyse statistique vient conforter cette observation, avec des coefficients de corrélation négatifs très élevés entre la concentration d'acide L-ascorbique et les concentrations mesurées de glucose et de cholestérol total. De plus, l'analyse des pentes de régression souligne une sensibilité analytique accrue de ces deux paramètres, avec des valeurs proches de $-100\%/M$, traduisant une perte proportionnelle de signal colorimétrique en fonction d'acide L-ascorbique ajouté. Ces résultats sont en accord avec les données de la littérature [5] [18], qui rapportent une inhibition significative des réactions enzymatiques dépendantes du H_2O_2 en présence d'agents réducteurs.

En revanche, l'interférence liée aux triglycérides est nettement moins prononcée. La diminution des concentrations observée reste modérée, même à des concentrations élevées d'acide L-ascorbique, ne dépassant pas 11 %. Cette faible sensibilité s'explique en partie par la présence d'ascorbate oxydase dans le réactif de dosage, une enzyme capable d'oxyder l'acide L-ascorbique [19]. Ainsi, la quantité d'acide L-ascorbique libre, susceptible de consommer le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , est réduite, limitant son impact sur la réaction de Trinder, même à des concentrations initialement élevées [20]. Ces observations sont en accord avec les données publiées, qui confirment que l'ajout d'ascorbate oxydase dans les réactifs permet d'atténuer, voire d'éliminer, les interférences liées aux méthodes de dosage utilisant la réaction de Trinder [20]. L'absence de différence significative entre les deux matrices biologiques (sérum de contrôle et pool de sérum) pour les trois paramètres étudiés suggère que l'effet de l'acide L-ascorbique est homogène pour ces paramètres, indépendamment de la nature de la matrice biologique utilisée.

Sur le plan analytique, ces résultats soulignent l'importance de prendre en compte l'effet potentiel des antioxydants, notamment l'acide L-ascorbique, dans le cadre des dosages enzymatiques de type Trinder.

En pratique clinique, un biais analytique $\geq 10\%$ est généralement considéré comme cliniquement significatif [21], car il peut induire des erreurs d'interprétation telles qu'une fausse hypoglycémie ou une fausse hypocholestérolémie. Dans cette étude, ce seuil a été atteint pour le glucose à un rapport molaire de 0,125:1 dans le sérum de contrôle commercial ($\approx 0,139$ g/L) et dès 0,065:1 dans le pool de sérum ($\approx 0,0695$ g/L). Pour le cholestérol total, l'interférence $\geq 10\%$ est apparue dès un rapport molaire de 0,065 :1 ($\approx 0,046-0,047$ g/L) dans les deux matrices, traduisant une forte sensibilité de ces dosages à l'acide L-ascorbique. Ces concentrations de l'acide L-ascorbique sont nettement supérieures aux concentrations plasmatiques physiologiques maximales ($\sim 0,01$ à $0,014$ g/L) [22], mais peuvent être atteintes chez des patients recevant de fortes doses de vitamine C, notamment en réanimation, où l'administration intraveineuse à haut débit, à biodisponibilité élevée, est parfois utilisée comme traitement adjuvant dans le sepsis sévère, le choc septique ou certaines détresses respiratoires aiguës, ce qui expose à un risque élevé d'interférence analytique et peut conduire à des résultats faussement abaissés cliniquement pertinents, notamment pour le glucose et le cholestérol total [23] [24]. Pour les triglycérides, aucune interférence $\geq 10\%$ n'a été observée dans le sérum de contrôle, et ce seuil n'a été atteint que dans le pool à $\approx 0,715$ g/L (rapport molaire 2,619), correspondant à des concentrations largement supérieures à celles observées en pratique clinique. Cela suggère que, pour le dosage des triglycérides par cette méthode intégrant l'ascorbate oxydase, l'occurrence d'un impact clinique est extrêmement improbable, sauf dans des situations induisant des concentrations plasmatiques supraphysiologiques d'acide L-ascorbique.

Toutefois, cette étude présente certaines limites qu'il convient de souligner. Tout d'abord, la présence d'ascorbate oxydase dans le réactif de triglycérides, contrairement à ceux du glucose et du cholestérol total, ainsi que l'utilisation de deux analyseurs distincts (AU480 pour CT/TG et Humastar 600 pour Glu) avec des réactifs contenant des chromogènes et des tampons différents, est susceptible d'influencer l'ampleur de l'interférence et introduire un biais méthodologique dans la comparaison inter-analytes [25]. Par ailleurs, les concentrations de l'acide L-ascorbique utilisées étaient nominales, sans quantification de sa fraction libre ni contrôle de sa stabilité (oxydation à l'air ou à la lumière), ce qui peut avoir entraîné une sous- ou surestimation de l'interférence réelle. De plus, l'absence de mesures répétées à différents temps d'incubation limite l'exploration de l'effet cinétique de l'interférence [26]. Enfin, il s'agit d'une approche *in vitro*, qui ne reflète pas nécessairement la complexité physiologique humaine, d'autant plus que l'utilisation d'un pool de sérum et d'un sérum de contrôle commercial ne permet pas de prendre en compte la variabilité interindividuelle. L'applicabilité clinique demeure ainsi limitée, en l'absence de données *in vivo* chez des patients supplémentés, de cinétiques plasmatiques post-administration (C_{max} , délai d'échantillonnage) et de validation de seuils décisionnels sur des cas cliniques réels [27].

5. CONCLUSION

L'acide L – ascorbique interfère de manière significative avec les dosages enzymatiques basés sur la réaction de Trinder, en particulier ceux utilisés pour la mesure du glucose et du cholestérol total, même à de faibles concentrations, tandis que son impact reste faible et probablement cliniquement négligeable pour les méthodes de dosage qui utilisent l'ascorbate oxydase. La biodisponibilité de l'acide L-ascorbique est d'environ 95 % à une dose de 200 mg, mais elle diminue à 49 % lorsque la dose atteint 1 250 mg [28]. Sa demi-vie plasmatique varie de quelques heures à plusieurs jours, en fonction de la dose administrée et du contexte physiologique [22]. Ces données mettent en évidence que la prise fréquente de l'acide L-ascorbique dans la population générale représente un véritable enjeu en biologie médicale, notamment pour l'interprétation de certains dosages biochimiques sensibles à son pouvoir réducteur.

Conflits d'intérêts : Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêts.

Contributions des auteurs : Tous les auteurs ont participé à la réalisation de l'étude, à la conception et à l'exécution des expériences en laboratoire, ainsi qu'à l'analyse et à l'interprétation des résultats. Ils ont également supervisé l'étude et contribué à la rédaction du manuscrit. Tous les auteurs ont lu et approuvé la version finale du manuscrit.

Source de financement : Aucune source de financement n'a été obtenue pour cette étude.

REFERENCES

1. Alberts A, Moldoveanu ET, Niculescu AG, et al. Vitamin C: A comprehensive review on its role in health, prevention of disease, and potential therapeutic effects. *Molecules*. 2025;30(3):748. doi:10.3390/molecules30030748.
2. Kaźmierczak-Barańska J, Boguszewska K, Adamus-Grabicka A, et al. Two faces of vitamin C—antioxidative and pro-oxidative agent. *Nutrients*. 2020;12(5):1501. doi:10.3390/nu12051501.
3. Bruno EJ Jr, Ziegenfuss T, Landis J. Vitamin C: update on research. *Curr Sports Med Rep*. 2006;5(3):177–81. doi:10.1097/01.CSMR.0000306203.96949.8b.
4. Padayatty SJ, Levine M. Vitamin C: the known and the unknown and Goldilocks. *Oral Dis*. 2016;22(6):463–93. doi:10.1111/odi.12446. PMID:26808119; PMCID:PMC4959991.
5. Martinello F, da Silva EL. Mechanism of ascorbic acid interference in biochemical tests that use peroxide and peroxidase to generate chromophore. *Clin Chim Acta*. 2006;373(1–2):108–16. doi:10.1016/j.cca.2006.05.010.
6. Tamaoku K, Murao Y, Ohkura Y. New water-soluble hydrogen donors for the enzymatic spectrophotometric determination of hydrogen peroxide. *Anal Chim Acta*. 1982;136:121–7. doi:10.1016/S0003-2670(01)95429-5.
7. Plero F, Lorenzo P. Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme that produces hydrogen peroxide. *Clin Chem*. 1982;28(10):2077–80.
8. Bendich A, Machlin LJ, Scandurra O, Burton GW, Wayner DDM. The antioxidant role of vitamin C. *Adv Free Radic Biol Med*. 1986;2(2):419–44. doi:10.1016/S8755-9668(86)80021-7.
9. Yoo DW, Jun KR, Lee JH, et al. False decrease in serum triglyceride and cholesterol due to massive ascorbate in a bowel preparation solution. *Clin Chem Lab Med*. 2021;59(3):e121–4. doi:10.1515/cclm-2020-0782.
10. ADA. Diagnostic et classification du diabète sucré: nouveaux critères. *Diabetes Metab*. 1999;25:72–83.
11. Bonnefont-Rousselot D. Exploration d'une anomalie lipidique. *Rev Biol Med*. 2022;367(4):37–47.
12. Amundson DM, Zhou M. A fluorometric method for enzymatic determination of cholesterol. *J Biochem Biophys Methods*. 1999;38(1):43–52. doi:10.1016/S0165-022X(98)00036-0.
13. Li LH, Dutkiewicz EP, Huang YC, et al. Analytical methods for cholesterol quantification. *J Food Drug Anal*. 2019;27(2):375–86. doi:10.1016/j.jfda.2018.09.001.
14. Ngo TT. Peroxidase in chemical and biochemical analysis. *Anal Lett*. 2010;43(10–11):1572–87. doi:10.1080/00032711003653874.
15. Fossati P, Prencipe L. Serum triglycerides determined by enzymatic methods. *Clin Chem*. 1982;28(10):2077–80. doi:10.1093/clinchem/28.10.2077.
16. Galant AL, Kaufman RC, Wilson JD. Glucose: detection and analysis. *Food Chem*. 2015;188:149–60. doi:10.1016/j.foodchem.2015.04.071.
17. Wayne PA. *CLSI Interference testing in clinical chemistry. Approved guideline, 2nd ed. CLSI document EP07-A2*. Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005.
18. Zwelg MH, Jackson A. Ascorbic acid interference in reagent-strip reactions for assay of urinary glucose and hemoglobin. *Clin Chem*. 1986;32(4):674–7.
19. Kim YR, Yu SW, Lee SR, et al. A heme-containing ascorbate oxidase from *Pleurotus ostreatus*. *J Biol Chem*. 1996;271(6):3105–11. doi:10.1074/jbc.271.6.3105.
20. Nah H, Yim J, Lee SG, Lim JB, Kim JH. Massive ascorbic acid interference. *Ann Lab Med*. 2016;36(2):188–90. doi:10.3343/alm.2016.36.2.188.
21. Petersen PH, de Verdier CH, Groth T, et al. The influence of analytical bias on diagnostic misclassifications. *Clin Chim Acta*. 1997;260(2):189–206. doi:10.1016/S0009-8981(96)06496-0.
22. Levine M, Wang Y, Padayatty SJ, Morrow J. New recommended dietary allowance for vitamin C in healthy young women. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98(17):9842–6. doi:10.1073/pnas.171318198.

23. Padayatty SJ, Sun H, Wang Y, et al. Vitamin C pharmacokinetics: implications for oral and intravenous use. *Ann Intern Med.* 2004;140(7):533–7. doi:10.7326/0003-4819-140-7-200404060-00010.
24. McCune TR, Toepp AJ, Sheehan BE, et al. High dose intravenous vitamin C treatment in sepsis: associations with acute kidney injury and mortality. *BMC Nephrol.* 2021;22(1):387. doi:10.1186/s12882-021-02599-1.
25. Dimeski G. Interference testing. *Clin Biochem Rev.* 2008;29(Suppl 1):S43–8. PMID:18787643; PMCID:PMC2556582.
26. Martinello F, da Silva EL. Evidence for time-dependent interference of ascorbic acid with several serum biochemical assays. *Clin Biochem.* 2006;39(4):396–403. doi:10.1016/j.clinbiochem.2005.11.011.
27. From in vitro experiments to in vivo and clinical studies: pros and cons. *Curr Clin Pharmacol.* 2010;5(1):1–2. doi:10.2174/157488410790410572.
28. Rumsey SC, Levine M. Absorption, transport, and disposition of ascorbic acid in humans. *J Nutr Biochem.* 1998;9(3):116–30. doi:10.1016/S0955-2863(97)00193-7.