

BIO MED 2024

LES JOURNÉES POUR L'AVENIR DE LA BIOLOGIE MÉDICALE

JEUDI 23 &
VENDREDI 24
MAI 2024

Pièges Analytiques en Biochimie

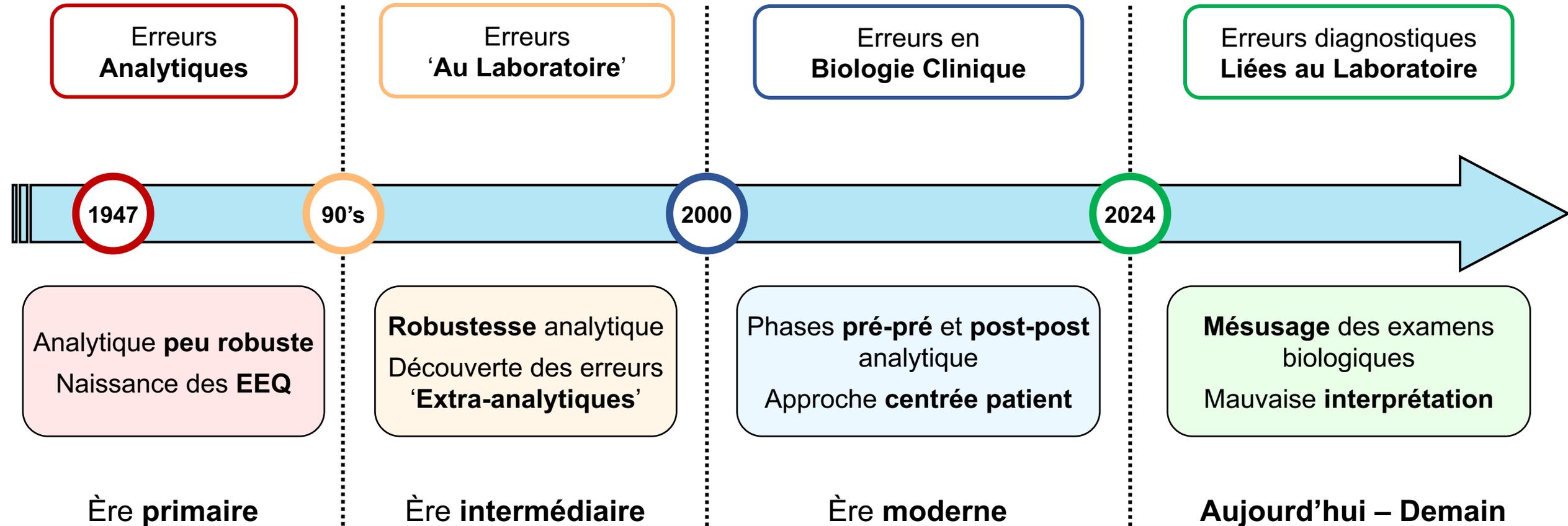
Dr Charles LEFÈVRE – Assistant Hospitalo-Universitaire

Laboratoire de Biochimie – Toxicologie | **CHU de Rennes**

GT SFBC – Sources d'erreurs au Laboratoire

Introduction – Sources d'erreurs au Laboratoire

Évolution des types d'erreurs au Laboratoire



Introduction – Sources d'erreurs au Laboratoire

Pré-pré-analytique

Ex : Mauvaise hypothèse clinique / Mauvais biomarqueur
Vitamine 1,25 OH₂ D₃ pour statut vitaminique D

Pré-analytique

Ex : Prise en charge de l'échantillon au Laboratoire
Echantillon pour plaquettes sur citrate centrifugé

Analytique

Ex : Interférence analytique
Présence d'anticorps hétérophiles lors d'un immunodosage

Post-analytique

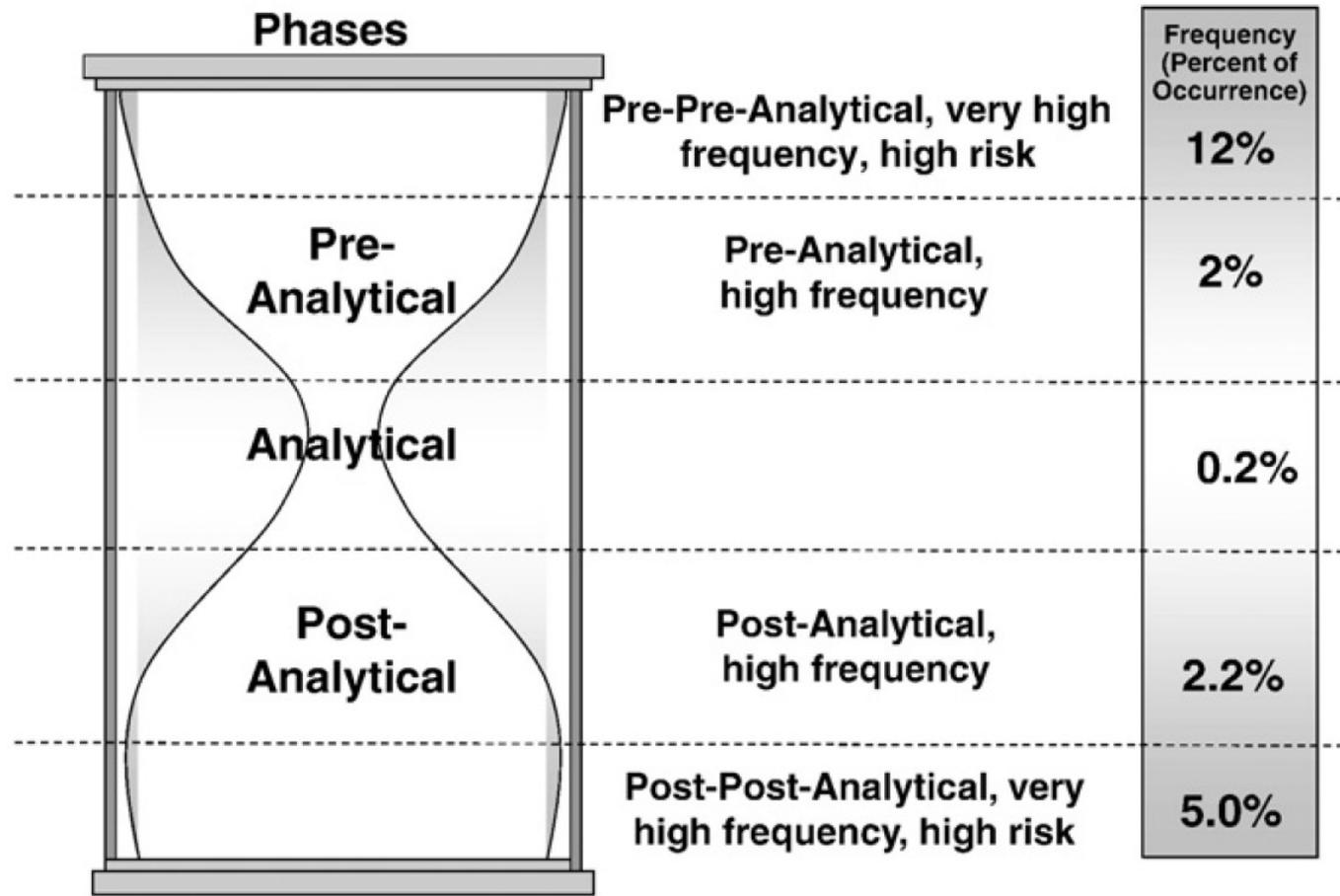
Ex : Délai de rendu accru
Rendu de diagnostic de paludisme >2h après réception

Post-post-analytique

Ex : Mauvaise lecture/interprétation/décision du clinicien
Lecture de la glycémie en mmol.L⁻¹ et interprétation en g.L⁻¹

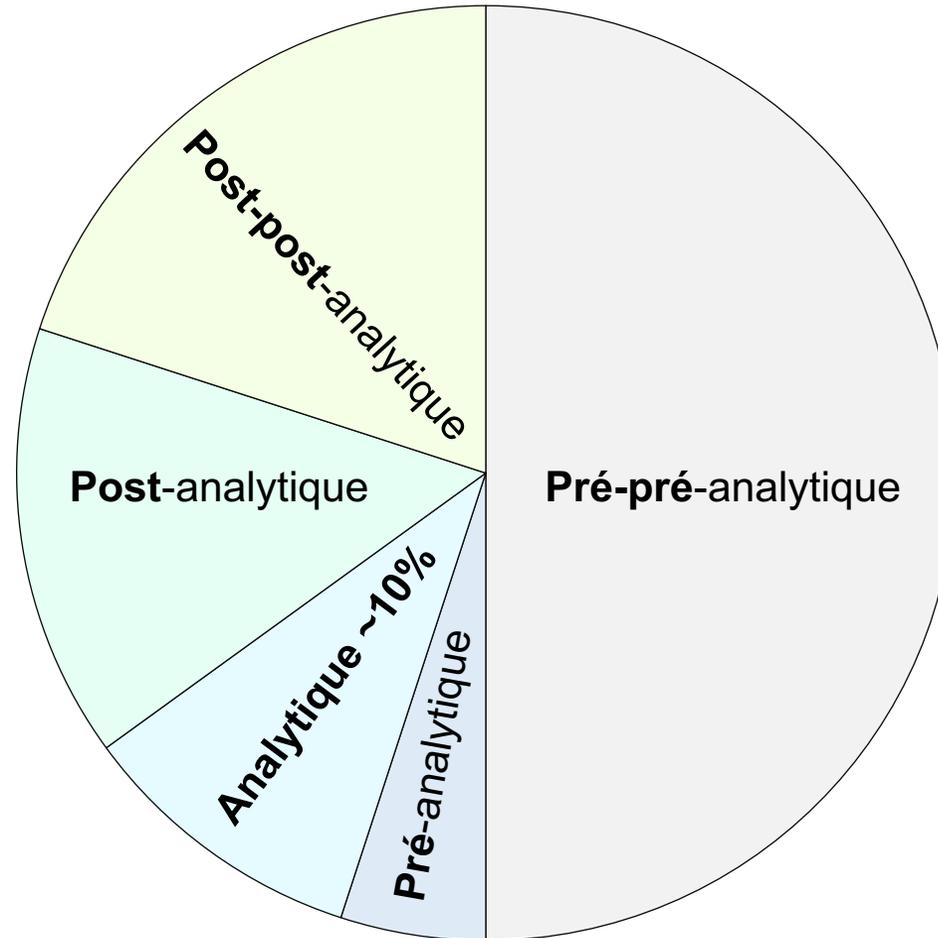
Introduction – Sources d'erreurs au Laboratoire

Proportion totale d'erreur liée au Laboratoire



Introduction – Sources d'erreurs au Laboratoire

Ensemble des erreurs liées au Laboratoire



Introduction – Sources d'erreurs au Laboratoire

Pré-pré-analytique

Ex : Mauvaise hypothèse clinique / Mauvais biomarqueur
Vitamine 1,25 OH₂ D₃ pour statut vitaminique D

Pré-analytique

Ex : Prise en charge de l'échantillon au Laboratoire
Echantillon pour plaquettes sur citrate centrifugé

Analytique

Ex : Interférence analytique
Présence d'anticorps hétérophiles lors d'un immunodosage

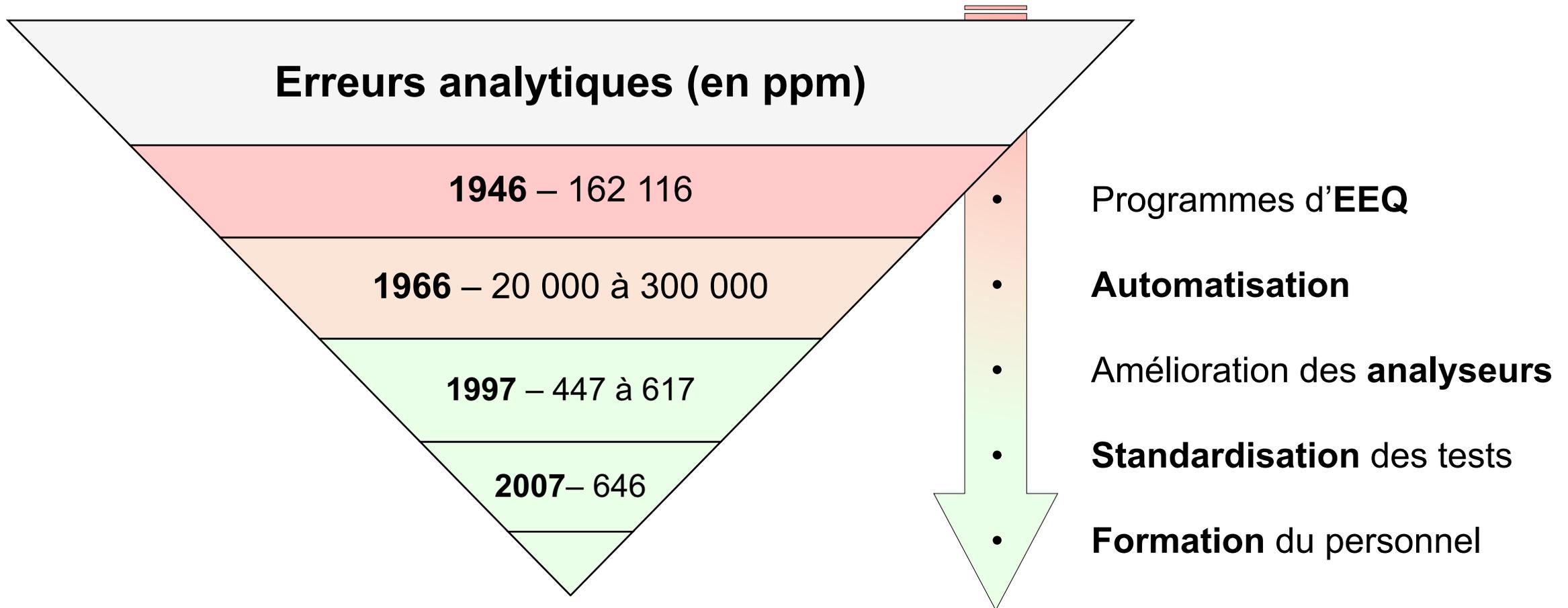
Post-analytique

Ex : Délai de rendu accru
Rendu de diagnostic de paludisme >2h après réception

Post-post-analytique

Ex : Mauvaise lecture/interprétation/décision du clinicien
Lecture de la glycémie en mmol.L⁻¹ et interprétation en g.L⁻¹

Introduction – Erreurs analytiques au fil du temps



Les erreurs analytiques, devenues **rare**s, sont plus **difficiles à repérer**

Auparavant strictement attribuées aux **performances analytiques**

Aujourd'hui, plutôt de l'ordre du **mouton à 5 pattes**

Mais l'impact peut-être **considérable**

→ **Rôle essentiel du Biologiste Médical**

Introduction – Erreurs analytiques

Patient de 53 ans

Diabétique hypertendu avec dyslipidémie

Admis pour douleur thoracique → troponine T élevée persistante

→ **Coronographie + IRM cardiaque injectée + 7j de monitoring**

→ Présence de **macrotroponine**

Patiente de 40 ans

Nodule thyroïdien suspect

Calcitonine : 200 ng.mL⁻¹ évoquant un cancer médullaire de la thyroïde

→ **Thyroïdectomie**

→ Présence d'**anticorps hétérophiles**

Pièges analytiques – Quelques illustrations

Spécificité du biomarqueur ?

Indices sériques ?

Alerte technique ?

Paraprotéine?

Discordance clinico-biologique
Incohérence inter-technique

Réactions croisées ?

Méthodes analytiques ?

Interférence sur
immunodosages?

Traitement/intoxication?

Illustrations (1) – Indices sériques

L'évaluation des **indices** sériques est l'**analyse la plus réalisée** en Biochimie

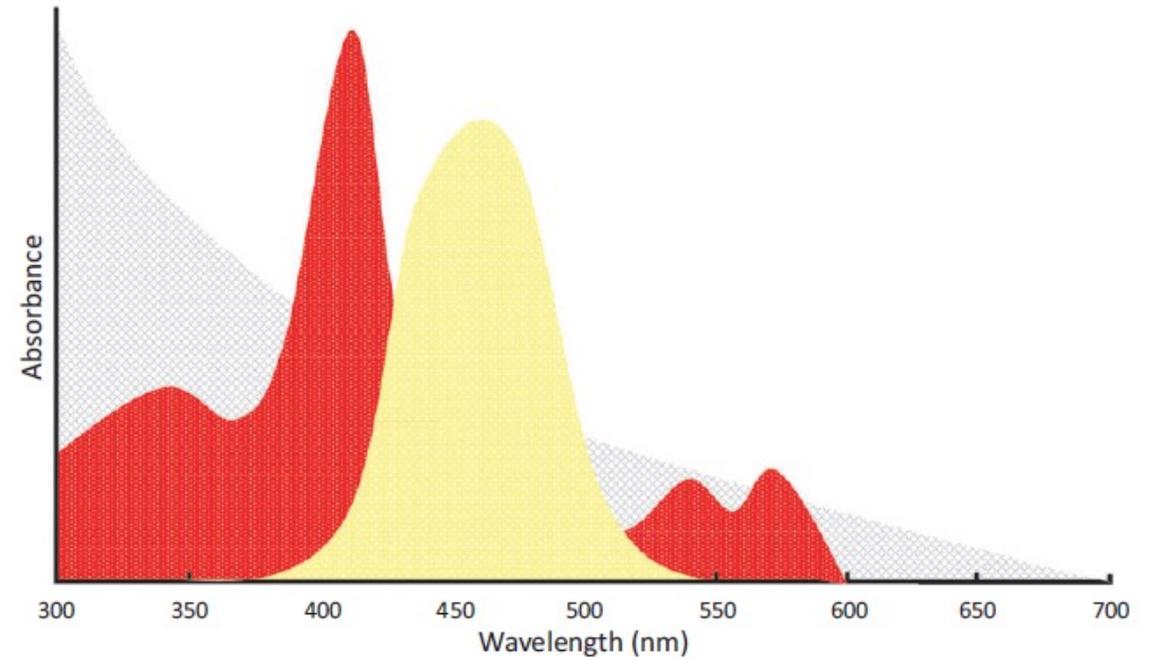
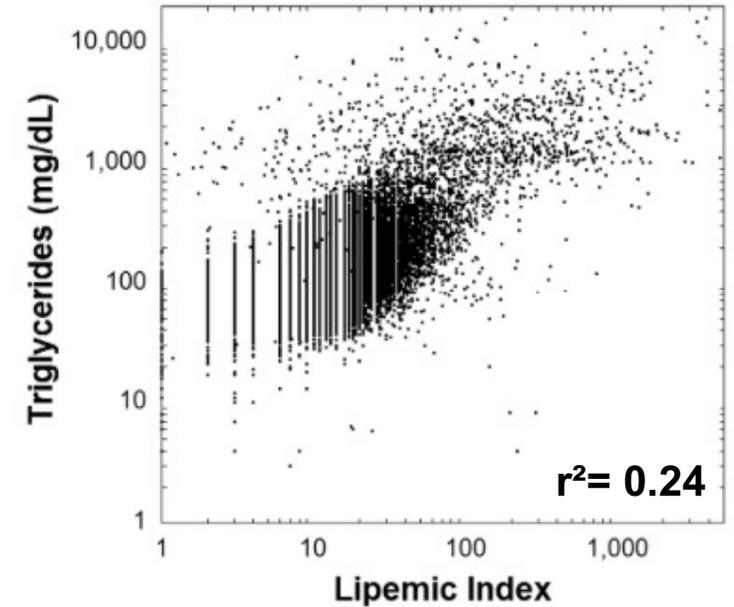
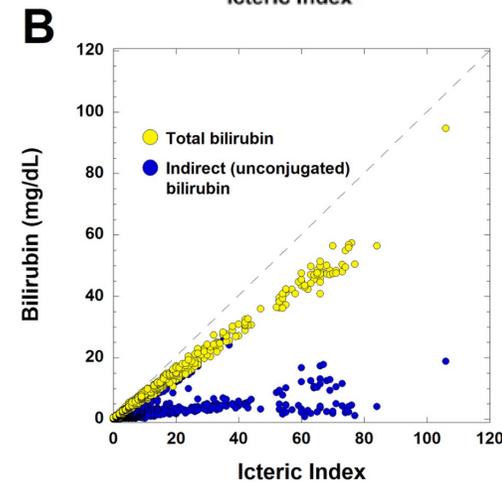
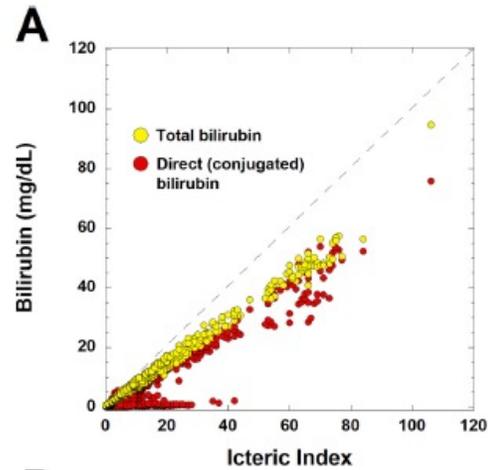
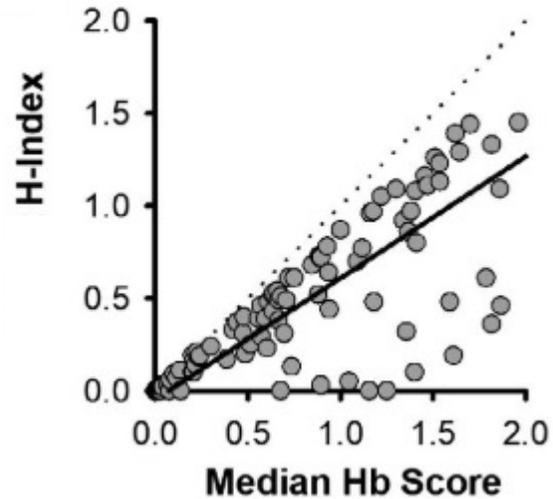


Figure 1. Visual spectra of haemoglobin (■), bilirubin (□) and lipaemia (▨).^{2,27,32}

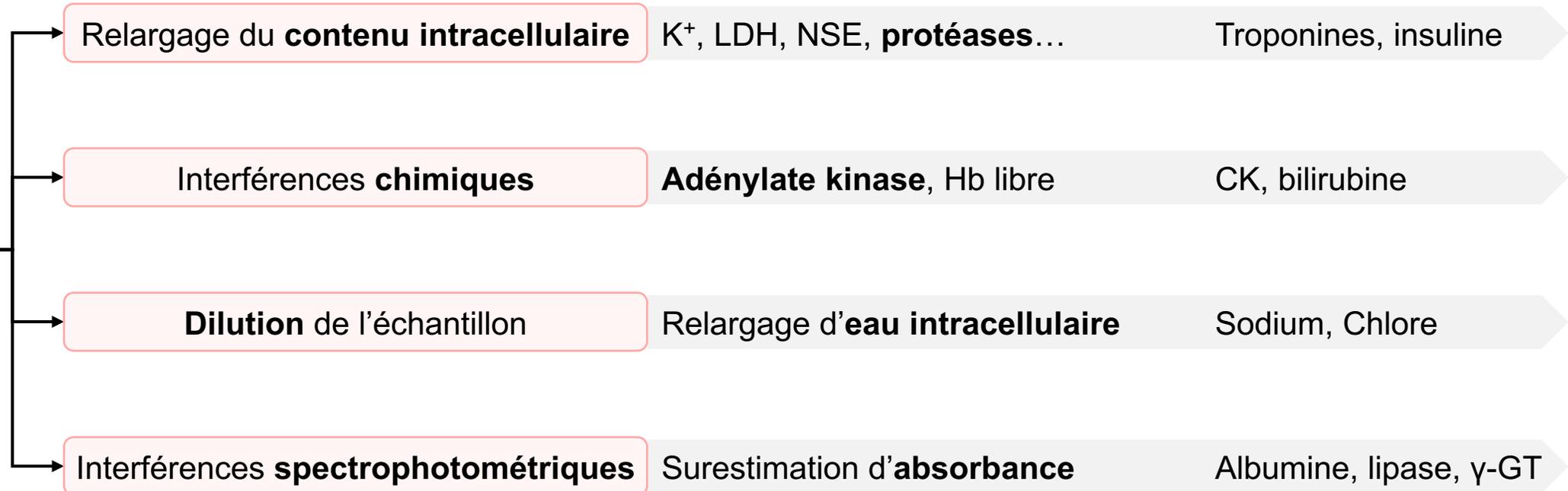
Illustrations (1) – Indices sériques

Les indices sériques ne sont **pas l'exact reflet** de ce qu'ils évaluent



Illustrations (1) – Indices sériques

L'hémolyse n'exerce **pas** qu'une **interférence spectrophotométrique**



Illustrations (1) – Indices sériques

Insuffisance des validations fournisseurs vis-à-vis des indices

Nécessité d'évaluer les **interférences**

Attention particulière aux effets **non liés** à la **détection**

Illustrations (2) – Tous les matrices se valent-elles ?

LIAISON® 25 OH Vitamin D Total Assay

A fully automated immunoassay for the direct measurement of 25 OH Vitamin D total levels in human **serum**, **EDTA plasma** and **lithium heparin plasma**.

Atellica® IM Vitamin D Total (VitD) Analyzer

Specimen Collection and Handling

Serum and plasma (**EDTA**, **lithium heparin**, and **sodium heparin**) are the recommended specimen types for this assay.

Elecsys Vitamin D total II

Prélèvement et préparation des échantillons

Seuls les types d'échantillons indiqués ci-dessous ont été testés et peuvent être utilisés.

Sérum recueilli sur tubes de prélèvement **standard** ou **contenant un gel** séparateur.

Plasma recueilli sur **héparine de lithium**, **EDTA dipotassique** et tripotassique.

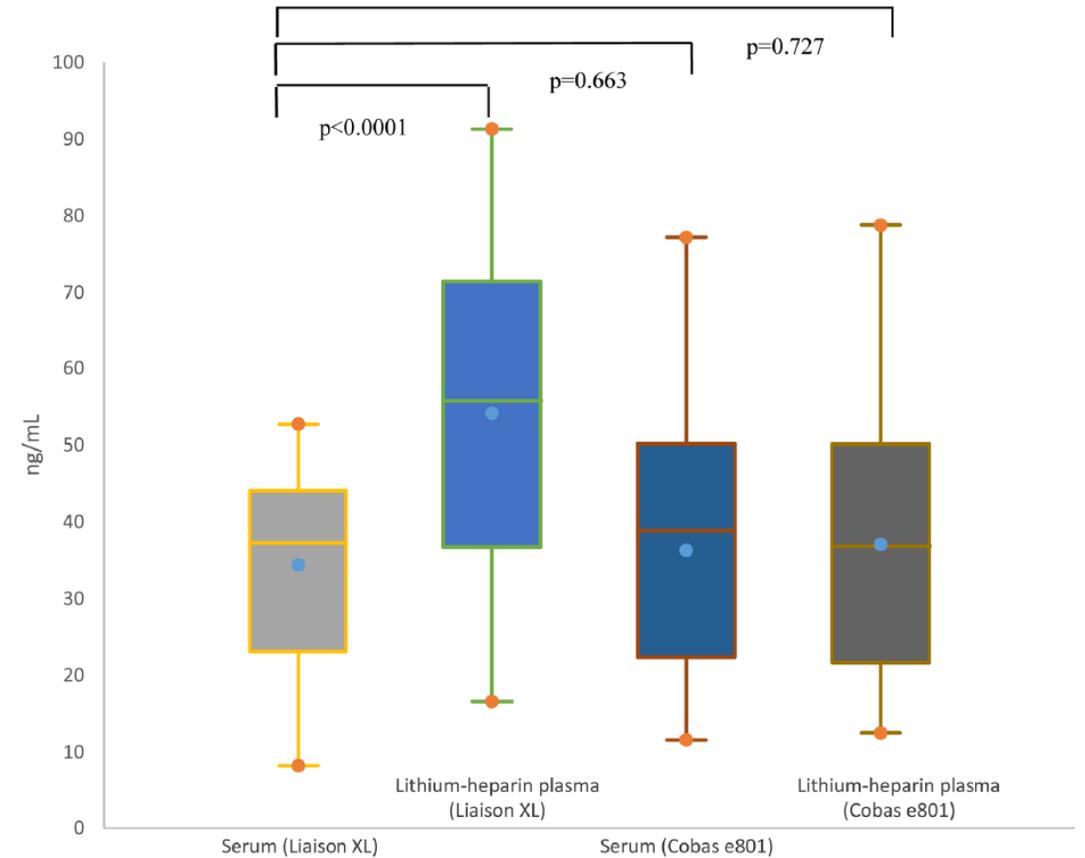
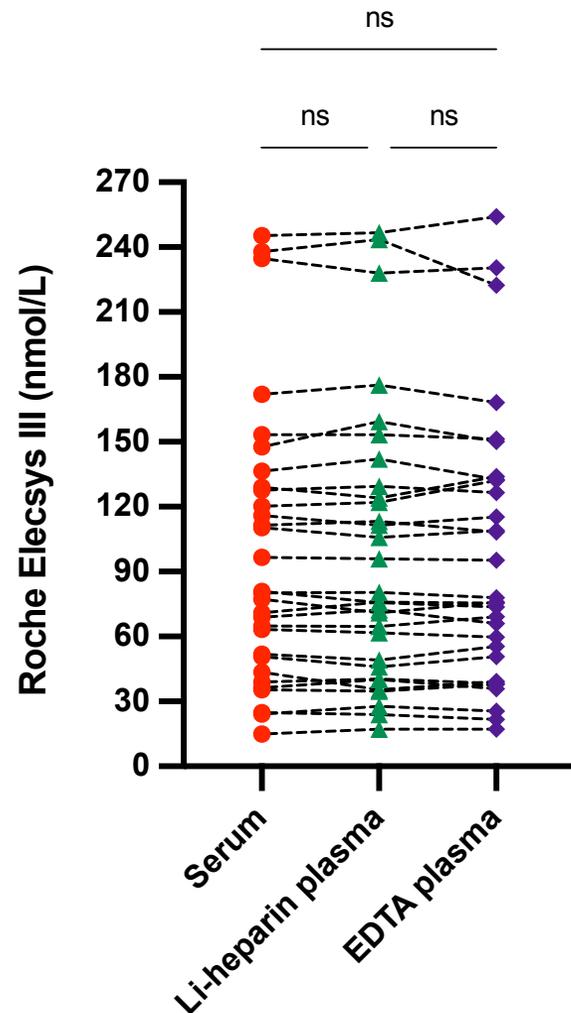
Access 25(OH) Vitamin D Total 25(OH) vitamin D

SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

1. Serum (**gel** and **no gel**) and plasma (**lithium heparin**) are the recommended samples.

Illustrations (2) – Tous les matrices se valent-elles ?

Discordance entre plasma et sérum pour le dosage de 25-OH vitamine D



Illustrations (2) – Tous les matrices se valent-elles ?

Les matrices annoncées conformes par le fournisseur doivent être validées

Comparaison de méthodes

Les taux de LDH déterminés dans des échantillons de sérum et de plasma humains sur l'analyseur **cobas c 111** (y) ont été comparés à ceux obtenus avec le même réactif sur un analyseur COBAS INTEGRA 400 (x).

n = 69

Passing/Bablok¹⁴

$$y = 1.000x + 1.07 \text{ U/L}$$

$\tau = 0.962$

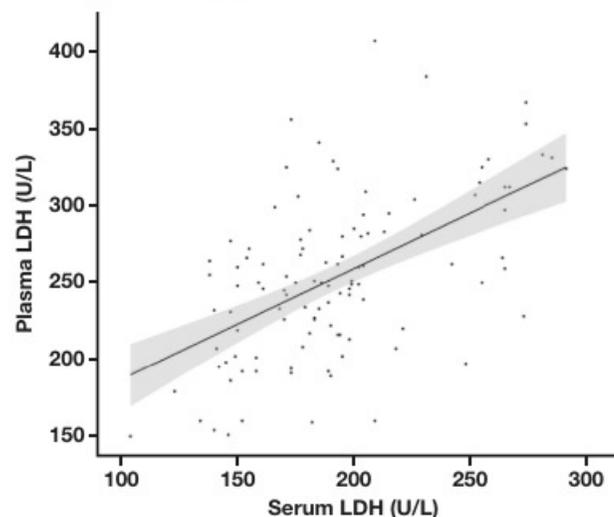
Régression linéaire

$$y = 1.011x - 0.859 \text{ U/L}$$

$r = 0.999$

Results: Plasma LDH was on average 22% higher than serum LDH.

There was no difference in the hemolytic indices between the plasma and the serum specimens. In the last 14 specimens, cell counts revealed increased platelets in the plasma specimens compared to the serum specimens.



Marie-Louise Schleck, Jean-Claude Souberbielle, Pierre Delanaye, Mario Plebani and Etienne Cavalier*

Parathormone stability in hemodialyzed patients and healthy subjects: comparison on non-centrifuged EDTA and serum samples with second- and third-generation assays

Conclusions: PTH seems more stable in EDTA than in serum gel tubes but only when samples have to stay unprocessed for a long period (18 h) at room temperature (25 °C), which can happen when samples are delivered from external care centers. For all the other conditions, using serum gel tubes is recommended since calcium measurement, which is necessary for a good PTH results interpretation, can be achieved on the same tube.

Illustrations (3) – Mauvaise indication du bon biomarqueur

Patiente de 72 ans suivie pour **mélanome métastatique**

- Traitée par **inhibiteurs d'immunocheckpoints** (Nivolumab, Ipilimumab)
- **Myosite** iatrogène → CK élevée à **3 113 U.L⁻¹**
- **Troponine T_{hs}** 'de principe' → **1 128 ng.mL⁻¹**
- Echo & IRM cardiaques, NT-proBNP **normaux**
- **Troponine I_{hs}** pour comparaison → **<10 ng.mL⁻¹**

Illustrations (3) – Mauvaise indication du bon biomarqueur

Défaut de cardiospécificité de la troponine T vis-à-vis de la troponine I

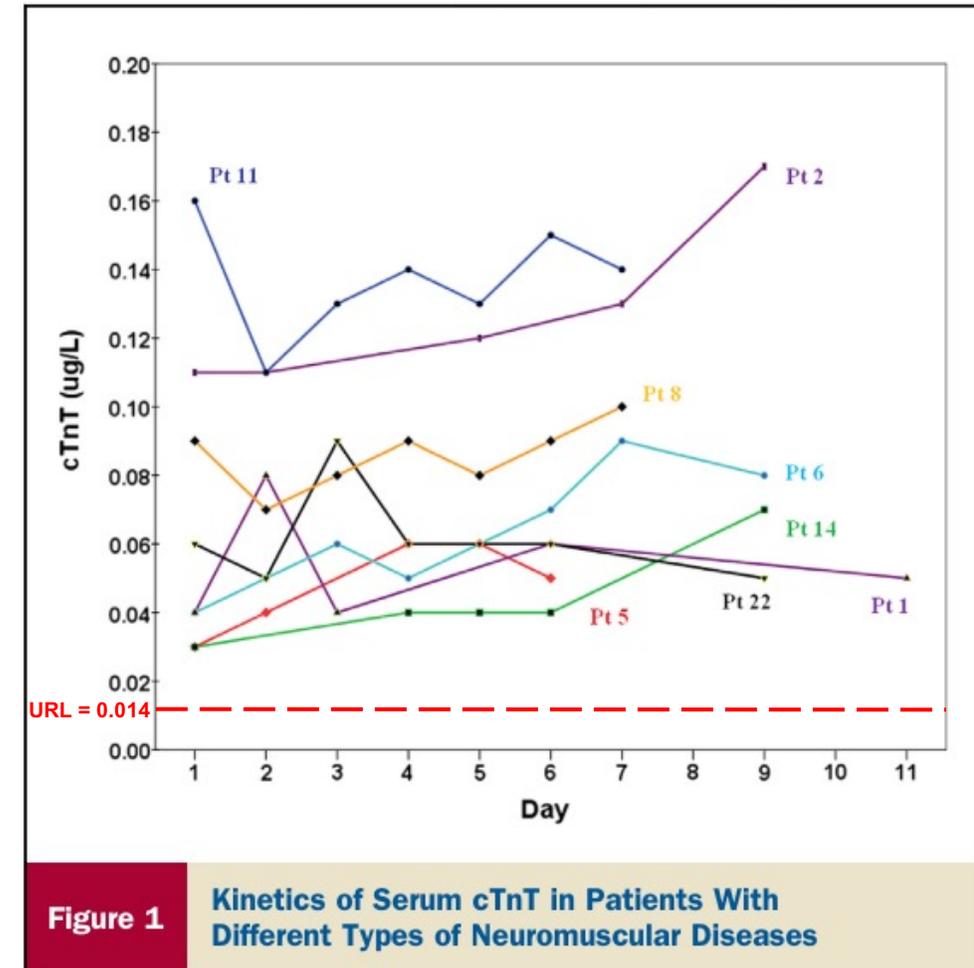
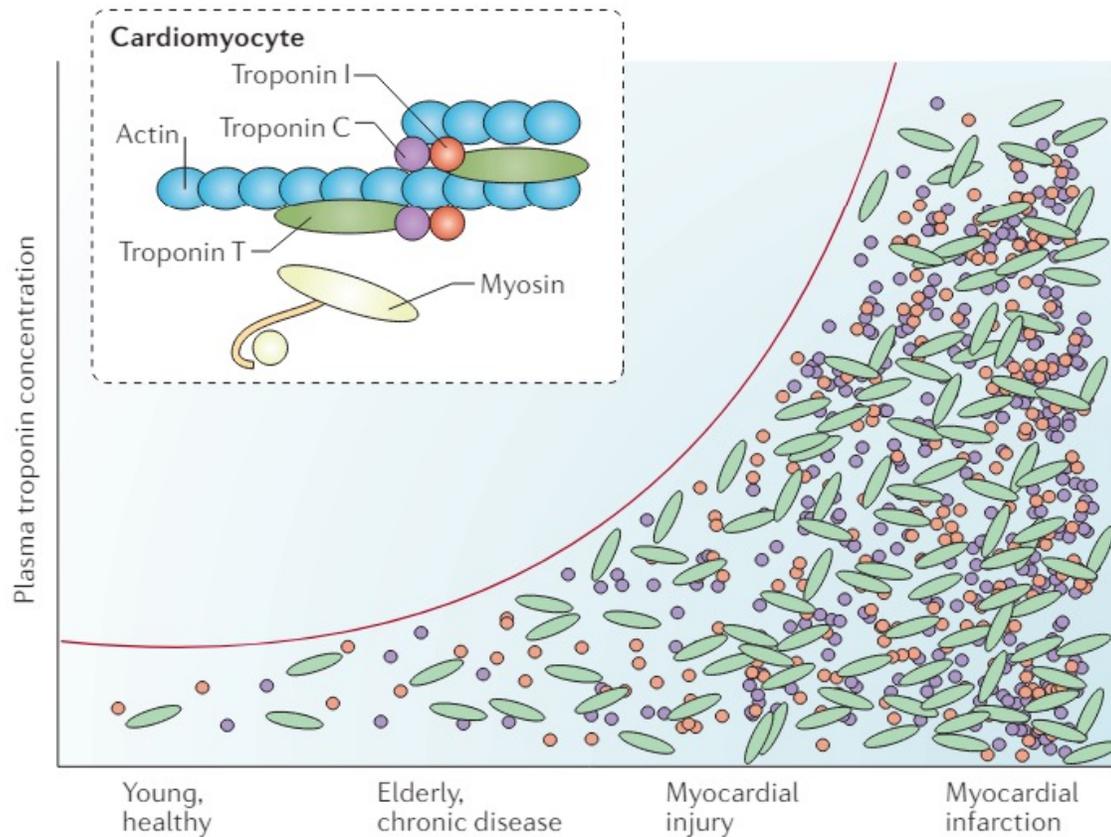


Figure 1

Kinetics of Serum cTnT in Patients With Different Types of Neuromuscular Diseases

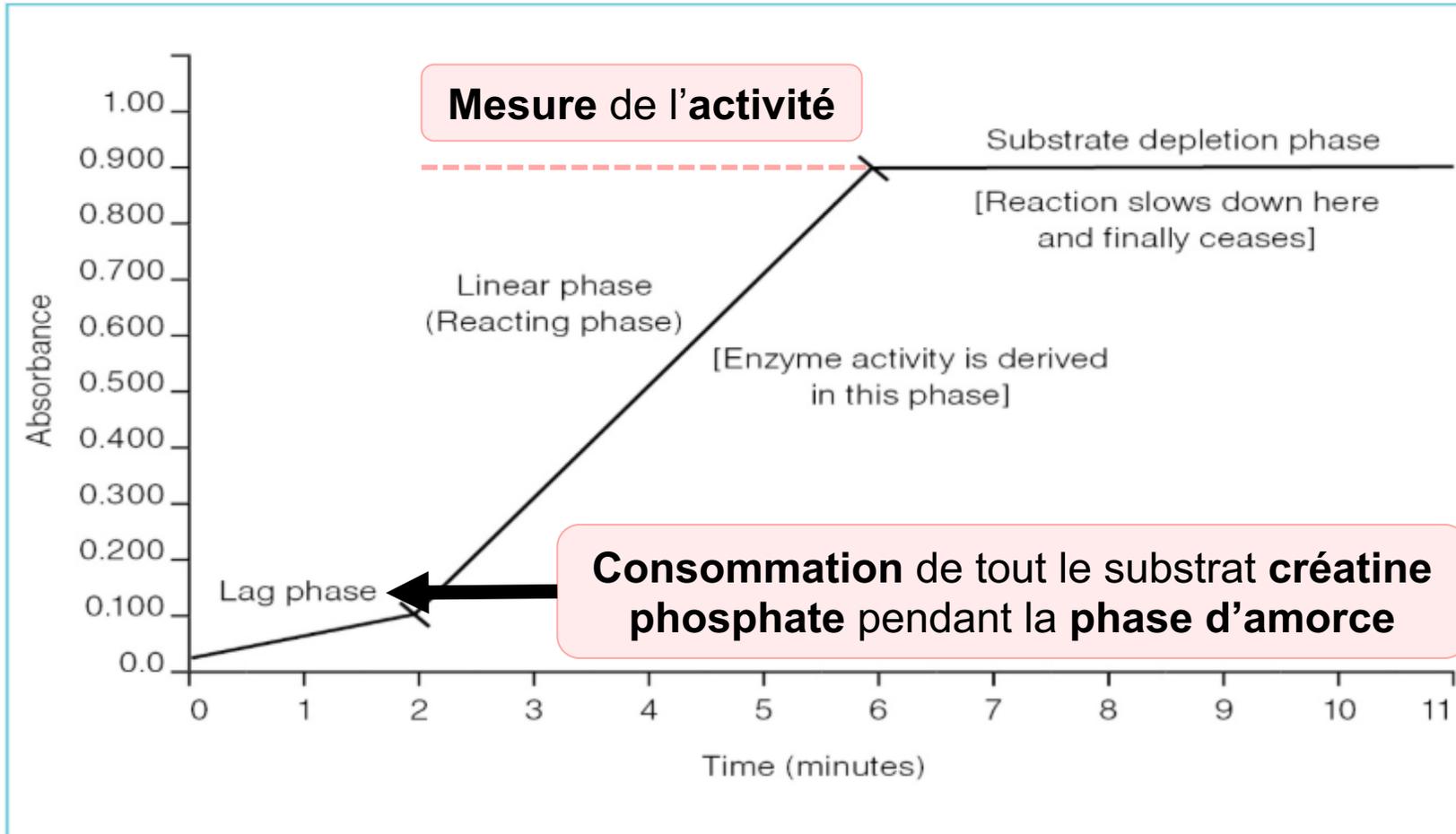
Illustrations (4) – Question de timing : cinétiques enzymatiques

Patient de **30 ans** admis pour **douleur, faiblesse** et **œdème** des **membres inférieurs**

- Diagnostic clinique de **rhabdomyolyse** → Explorations **biologiques**
 - ASAT : 1 110 U.L⁻¹ ; ALAT : 1 205 U.L⁻¹
 - Créatinine : 240 µmol.L⁻¹ ; Albuminurie +++
 - **Créatine Kinase : <LoQ**
 - Appel du clinicien devant la **discordance clinico-biologique**
 - **Dilution** de l'échantillon → **CK : 150 891 U.L⁻¹**

Illustrations (4) – Question de timing : cinétiques enzymatiques

Erreur de rendu par déplétion de substrat liée à l'activité CK trop importante



Principe
Test UV



ALAT, ASAT
PAL
γ-GT
LDH

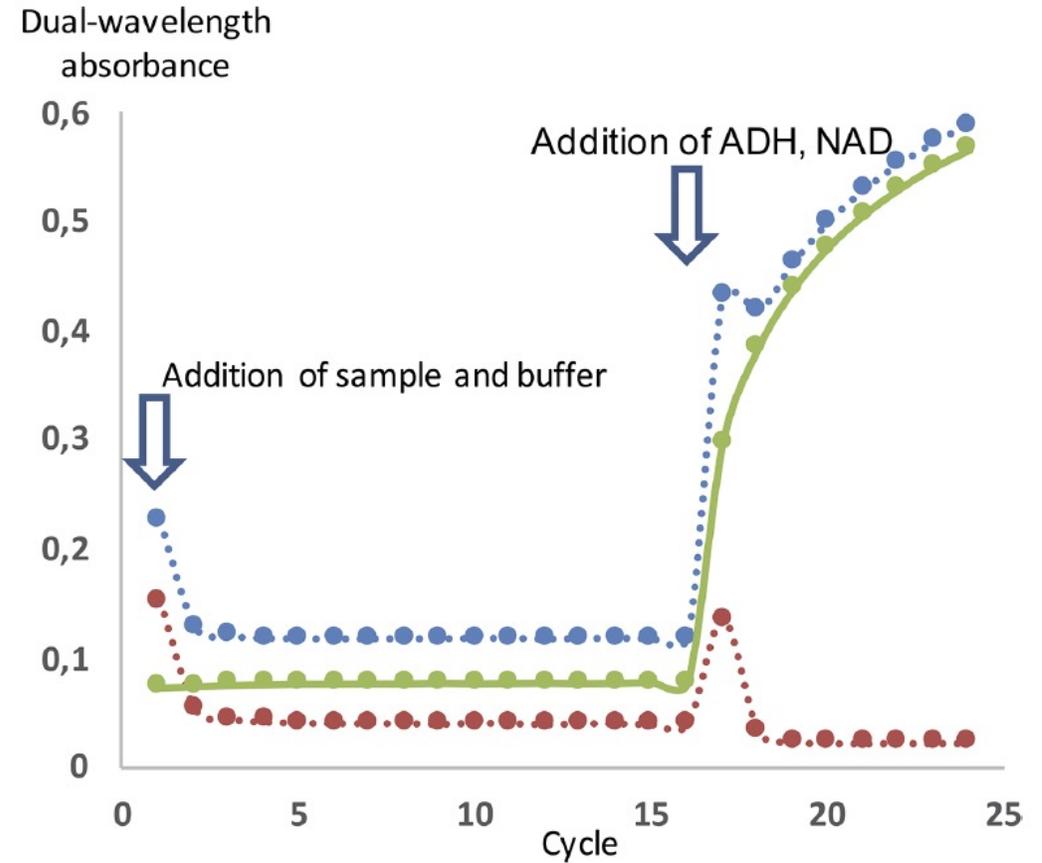
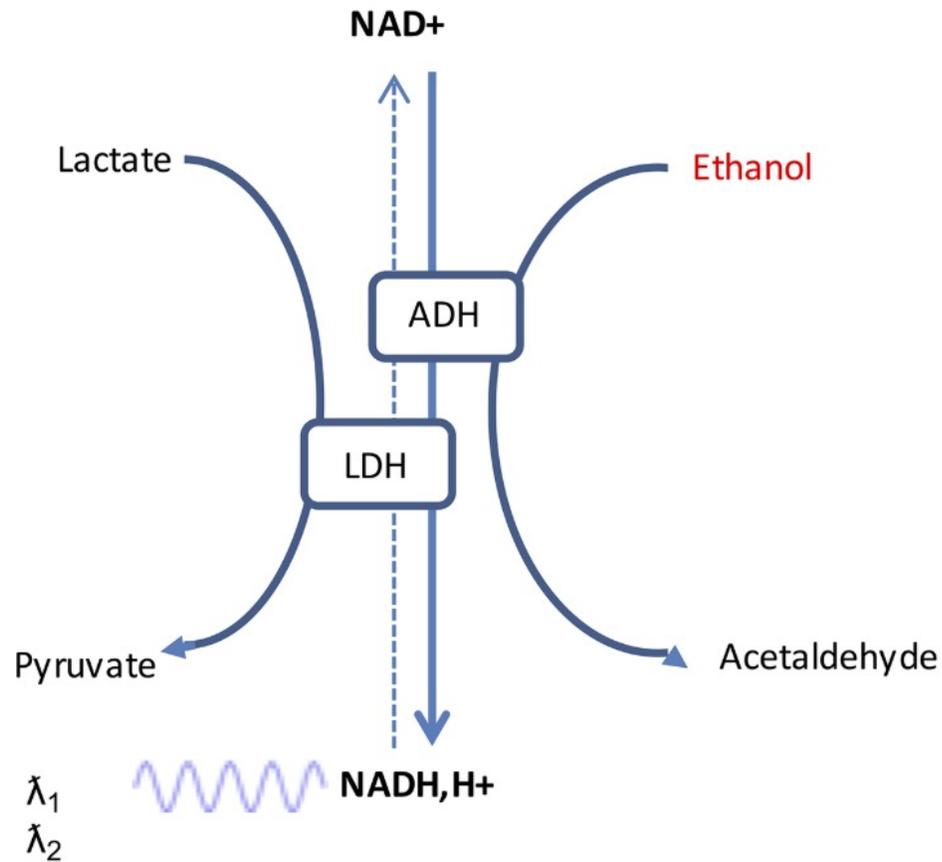
Illustrations (5) – Le plasma patient, un réactif?

Enfant de **11 mois** présentant un **arrêt cardiorespiratoire** sur **cardiopathie congénitale**

- Admis en **réanimation**
- Acidose métabolique sévère, lactique (**pH : 6.78 ; lactates : 16 mmol.L⁻¹**)
- Foie de choc (ASAT : 3064 U.L⁻¹ ; ALAT : 1485 U.L⁻¹)
- **Screening** toxicologique → éthanolémie : **0.65 g.L⁻¹**
 - Sans suspicion d'ingestion
 - Et **discordance inter-techniques** avec EtOH <LoQ en **GC-MS**

Illustrations (5) – Le plasma patient, un réactif?

Interférence des LDH et du lactate par génération de cofacteur réduit NADH, H^+



Illustrations (5) – Le plasma patient, un réactif?

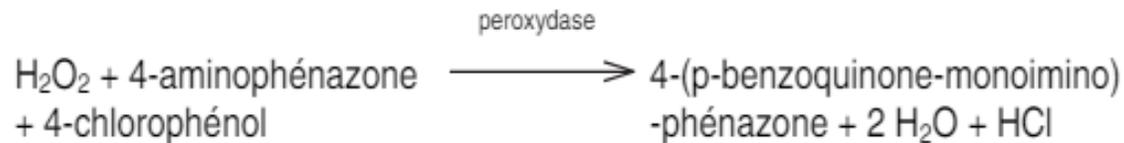
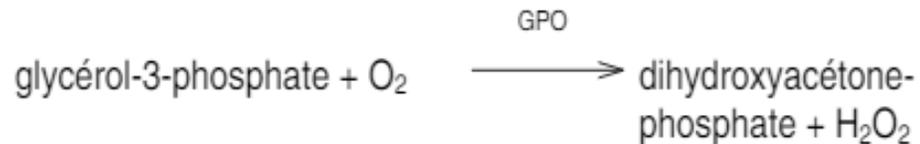
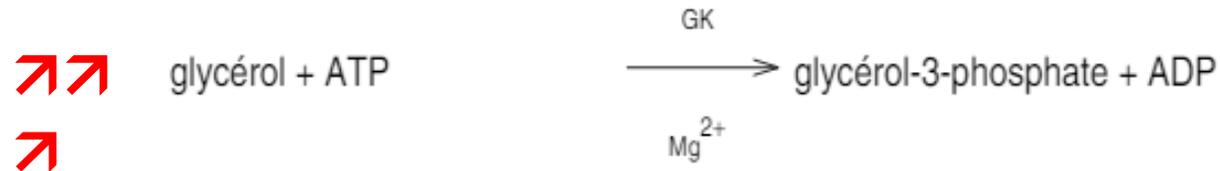
Patient de **27 ans**, consultation externe de cardiologie pour **anomalie du bilan lipidique**

- En bonne santé, sportif, pas de toxiques, alimentation équilibrée
- **Triglycérides** retrouvés élevés en ville à plusieurs reprises **~4.5 mmol.L⁻¹**
- Dosage à **jeun** élevé au Laboratoire hospitalier, **malgré** un indice de lipémie **limpide**
 - Vérification visuelle → **plasma limpide**
 - **Incohérence technique** suggérant une **interférence**

Illustrations (5) – Le plasma patient, un réactif?

Déficit en glycérol kinase interférant avec le dosage des triglycérides

Test colorimétrique enzymatique



Illustrations (5) – Le plasma patient, un réactif?

Déficit en glycérol kinase interférant avec le dosage des triglycérides

(Pseudo)hypertriglyceridaemia in end-stage renal disease

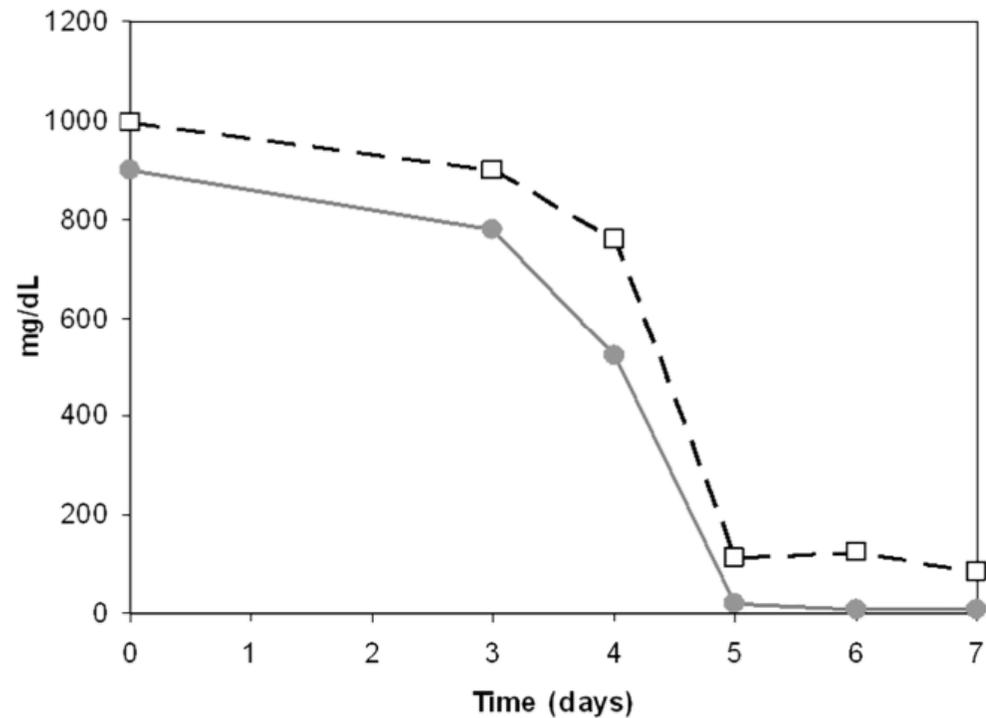


Table 1. Presence of glycerol in some alcoholic beverages

| Alcoholic beverages | Glycerol content (mg/dL) |
|---------------------|--------------------------|
| White wine | 468 |
| Duvel [®] | 227 |
| Abbey beer | 189 |
| Lager beer | 96 |
| Red wine | 85 |
| Stout beer | 68 |
| Whisky | 0 |

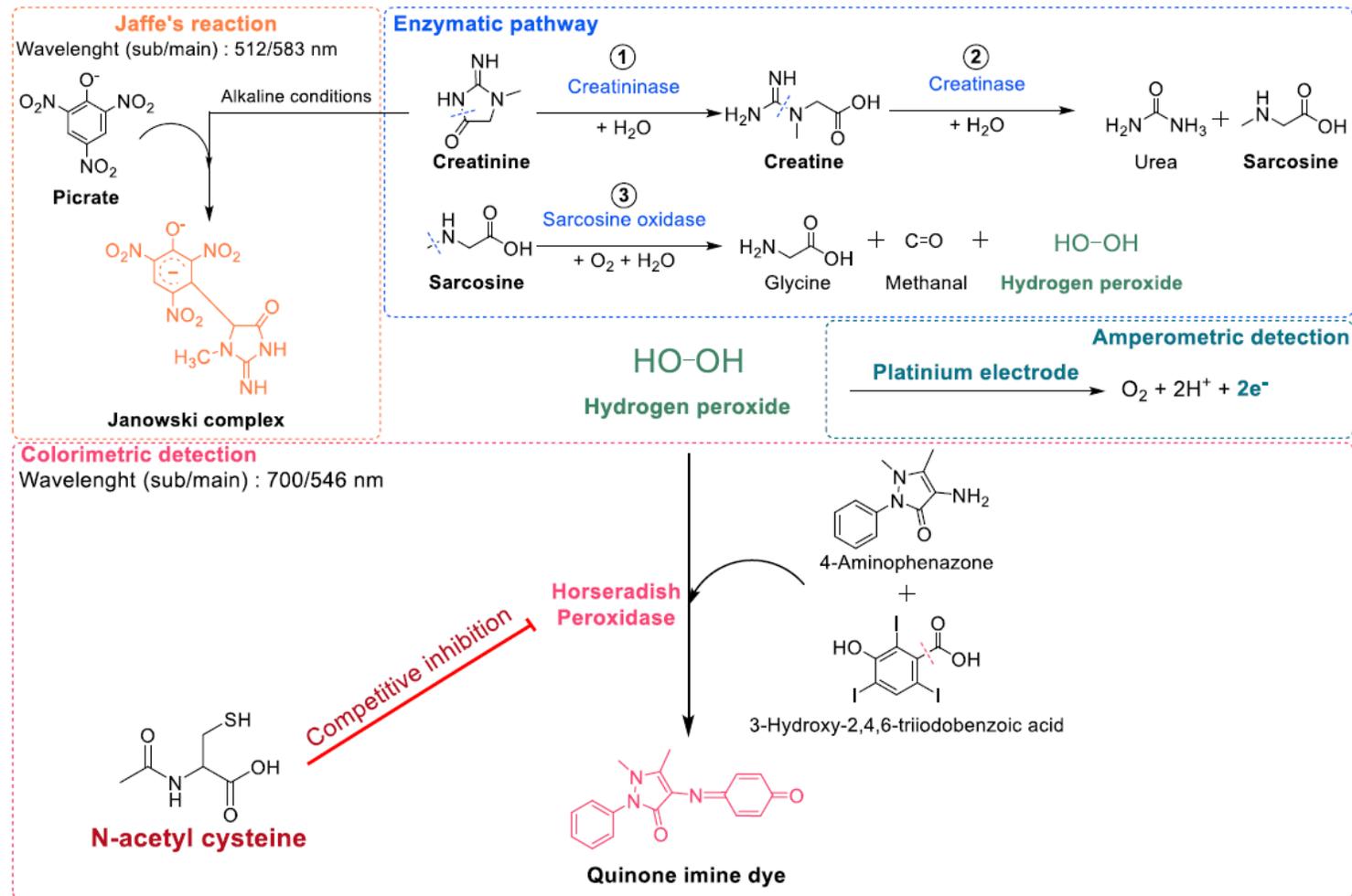
Illustrations (6) – Les xénobiotiques

Patiente de **17 ans** admise aux urgences pour **IMV** au **paracétamol**

- Instauration du protocole **N-acetylcystéine**
- Bilan **biologique** systématique **après traitement antidotique**
 - Sans anomalie particulière hormis une **créatininémie** à **9 $\mu\text{mol.L}^{-1}$**
- Bilan de suivi en post-urgences à **h24** : **créatininémie** : **49 $\mu\text{mol.L}^{-1}$**
- **Discordance clinico-biologique** : absence d'IR, de myopathie, grossesse etc.
 - **Biologie délocalisée** au moment du bilan d'entrée → **créatinine** : **47 $\mu\text{mol.L}^{-1}$**

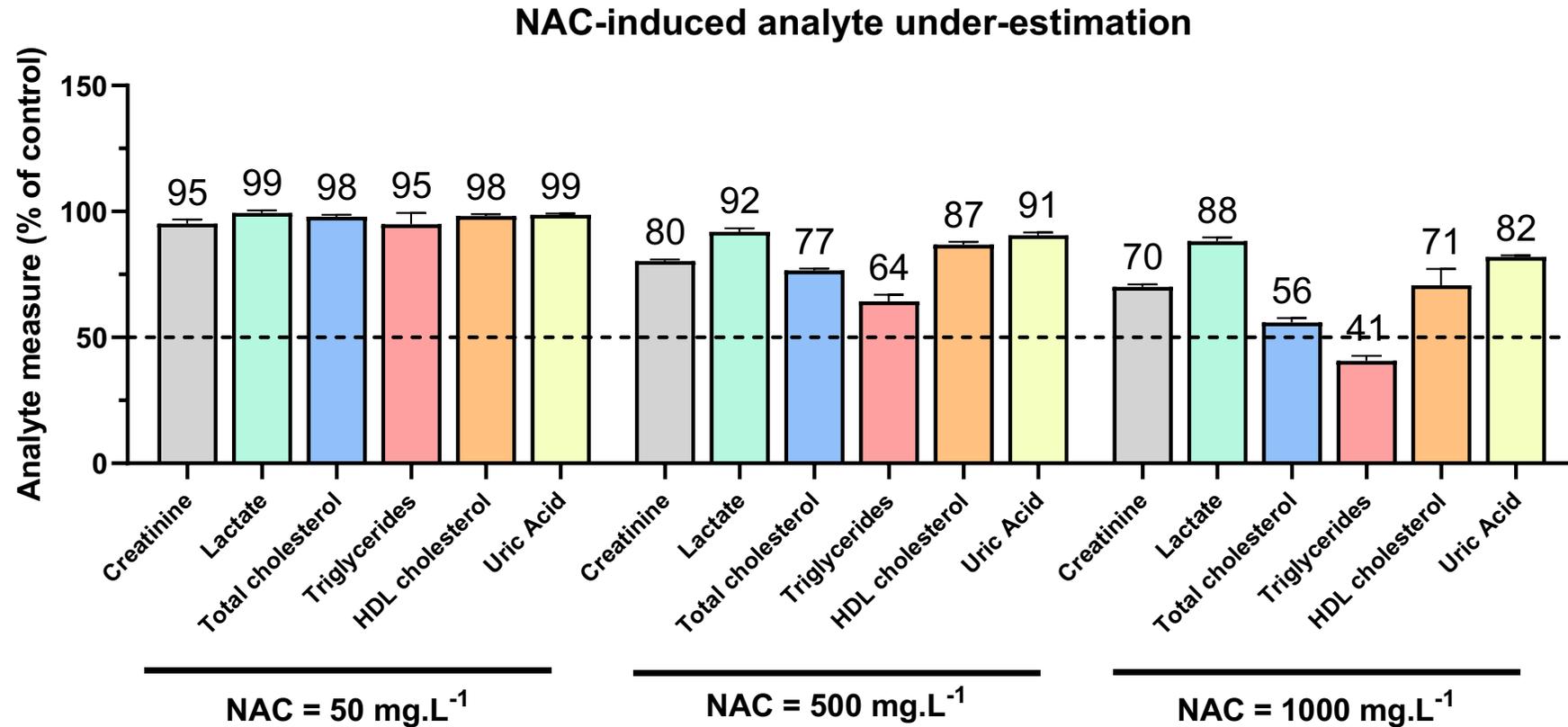
Illustrations (6) – Les xénobiotiques

Interférence de la **NAC** sur la méthode de Trinder → inhibition de la peroxydase



Illustrations (6) – Les xénobiotiques

Interférence de la **NAC** sur la méthode de Trinder → inhibition de la **péroxydase**



Illustrations (6) – Les xénobiotiques

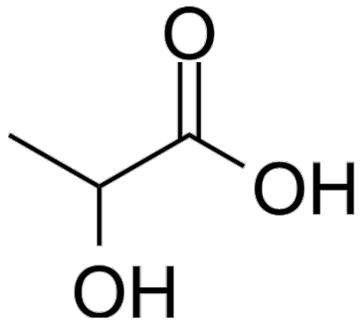
Patiente de **47 ans** admise en réanimation pour **IMV à l'insuline**

- Coma, glycémie capillaire et veineuse **indosable**, alcoolémie négative
- **Acidose métabolique à trou anionique augmenté**
 - Lactates : $>30 \text{ mmol.L}^{-1}$ sur ABL825 ; 11,4 sur Cobas et 3,12 sur Vista
 - **Discordance inter-techniques**
- Présence d'un **trou osmolaire** important → alcool osmotique non éthanolique?
 - Intoxication massive à **l'éthylène-glycol**

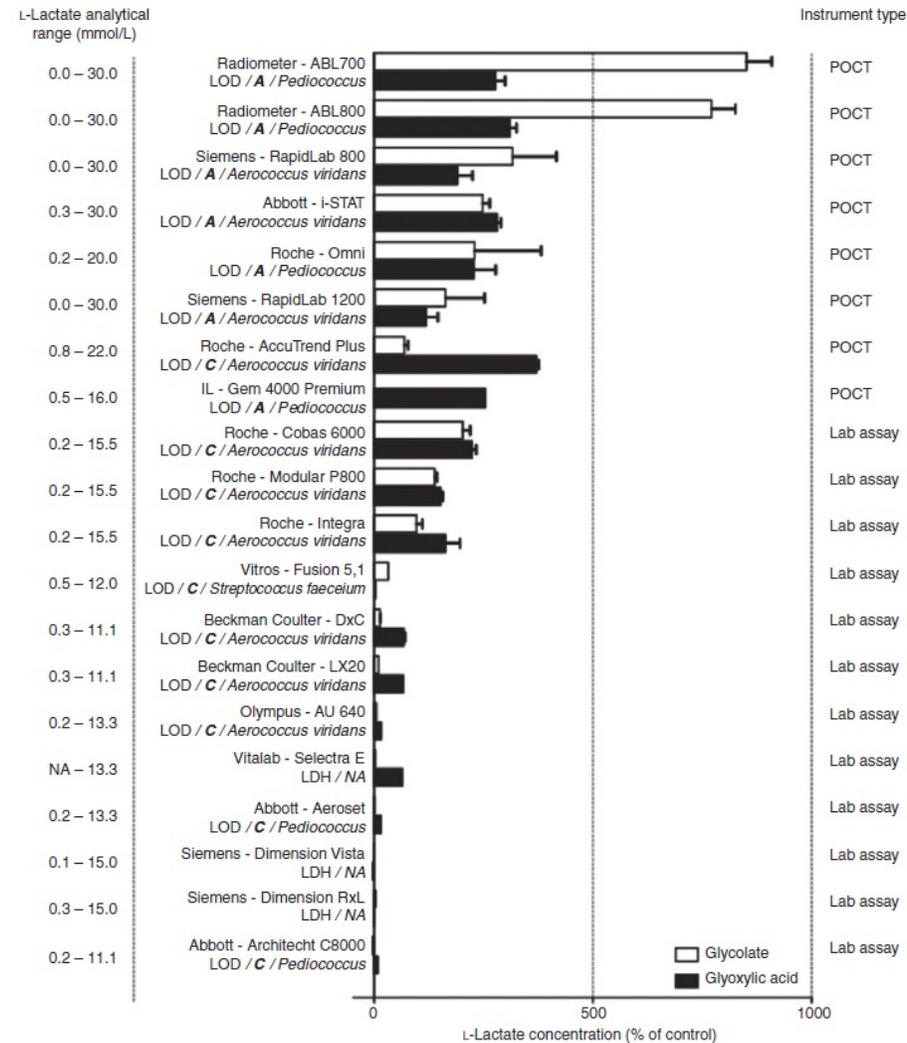
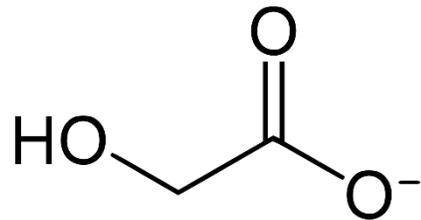
Illustrations (6) – Les xénobiotiques

Interférence du glycolate sur les méthodes lactate oxydase par similarité de structure

Lactate



Glycolate



Illustrations (7) – Paraprotéines

Les **protéines monoclonales** peuvent interférer

- Avec la **plupart des dosages**
- Dans **les deux sens** (faux positif ou faux négatif)
- **IgM +++**

Turbidité

DO initiale augmentée → Δ DO plus faible
Fausse hypoglycémie

Interaction chimique avec réactif

Réaction avec le picrate alcalin
Créatininémie faussement basse

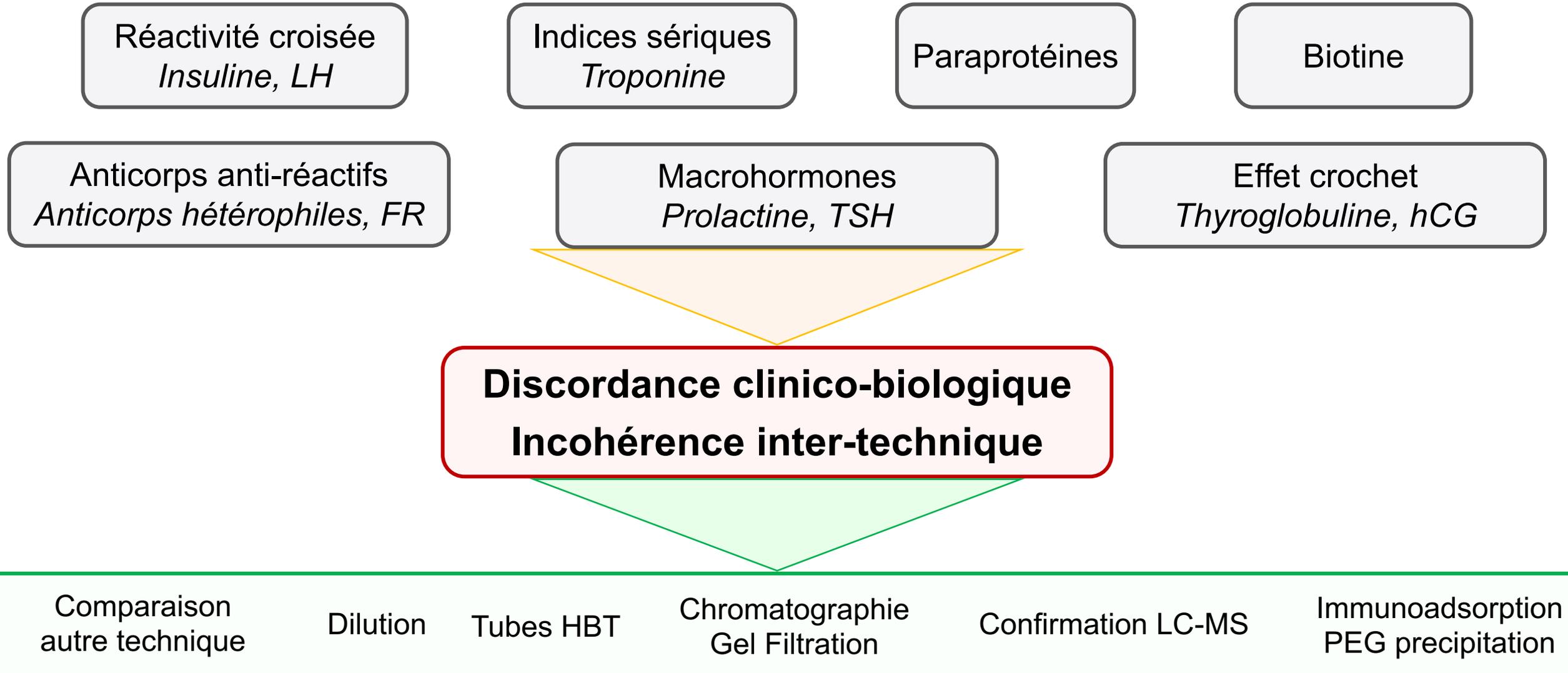
Hyperviscosité

Problèmes de pipetage

Effet de déplacement de l'eau

Pseudohyponatrémie

Illustrations (8) – Immunodosages



Pièges analytiques – Quelques illustrations

Spécificité du biomarqueur ?

Indices sériques ?

Alerte technique ?

Paraprotéine?

Discordance clinico-biologique
Incohérence inter-technique

Réactions croisées ?

Méthodes analytiques ?

Interférence sur
immunodosages?

Traitement/intoxication?



Société Française
de Biologie Clinique

Merci pour votre attention

Question – Discussion

GT Sources d'erreurs au Laboratoire



Hichem Assami
Kremlin-Bicêtre, APHP



Valéry Bourbonneux
CH de Saint-Brieuc



Valéry Brunel
CHU de Rouen



Clément Capaldo
CHU de Brest



Nicolas Collet
CHU de Rennes



Dorra Guergour
CHU de Grenoble



Guillaume Grzych
CHU de Lille



Charles Lefèvre
CHU de Rennes



Wafa Masri
CH de Meaux



Jonathan Outreville
CHU de la Réunion



Véronique Raverot
Hospices Civils de Lyon



Nathalie Rousseau
Hôpitaux Saint-Joseph Saint-Luc, Lyon



Mustapha Zendjabil
CHU d'Oran, Algérie

Pièges Analytiques en Biochimie

Dr Charles LEFÈVRE – Assistant Hospitalo-Universitaire

Laboratoire de Biochimie – Toxicologie | **CHU de Rennes**

GT SFBC – Sources d'erreurs au Laboratoire

charles.lefevre@chu-rennes.fr

Biomed-J 2024 – Paris

