

# Aspect des séra : hémolyse, ictère et lipémie.



13 décembre 2007  
« Les jeudis de Fleurus »

Phcien Le Goff Caroline, Dr Lognard Michaël  
Centre Hospitalier Universitaire de Liège

# Introduction

Facteurs responsables de la fragilité des constituants biochimiques.

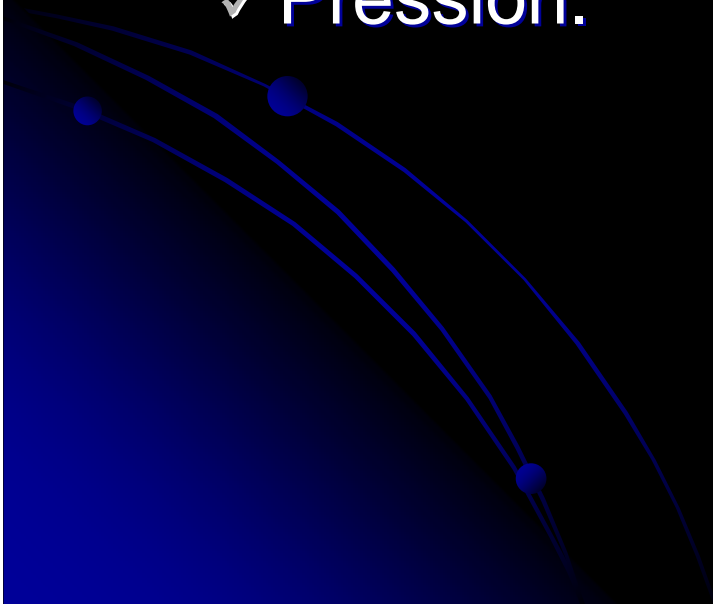
❖ *Facteurs spécifiques au liquide biologique :*

- ✓ Contact prolongé du plasma avec les éléments figurés du sang.
- ✓ Dégradation des hématies ou hémolyse.
- ✓ Activation et modification des plaquettes.

# Introduction

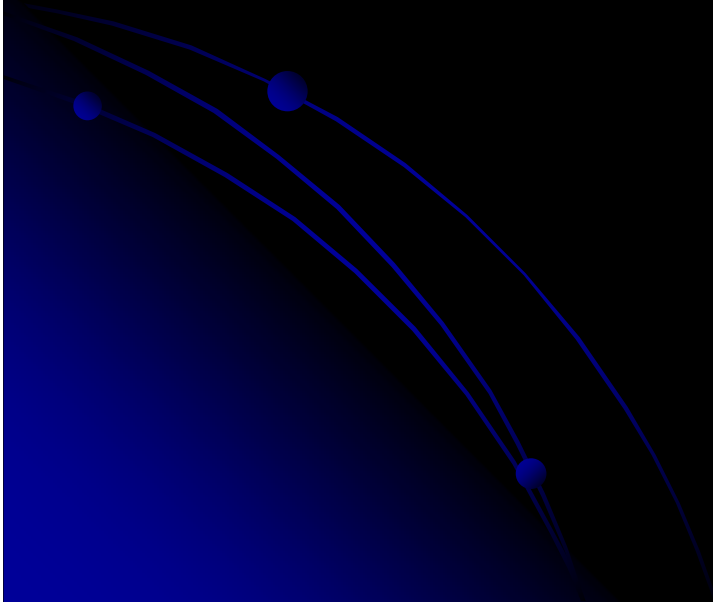
## ❖ *Facteurs liés à l'environnement de l'échantillon :*

- ✓ Exposition à la lumière.
- ✓ Température.
- ✓ Pression.

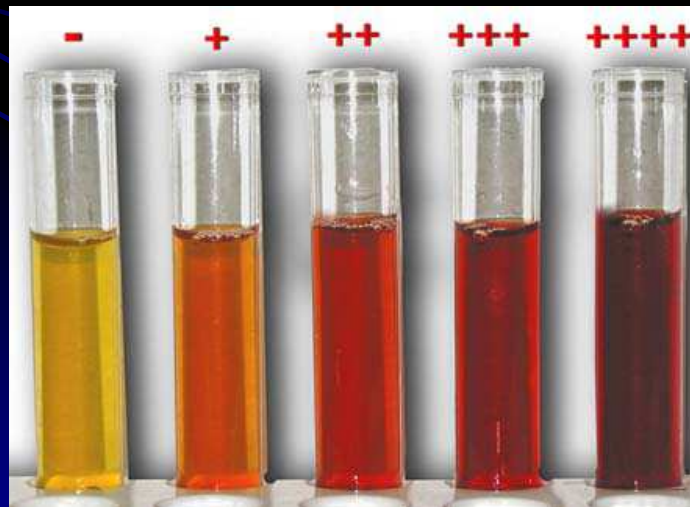
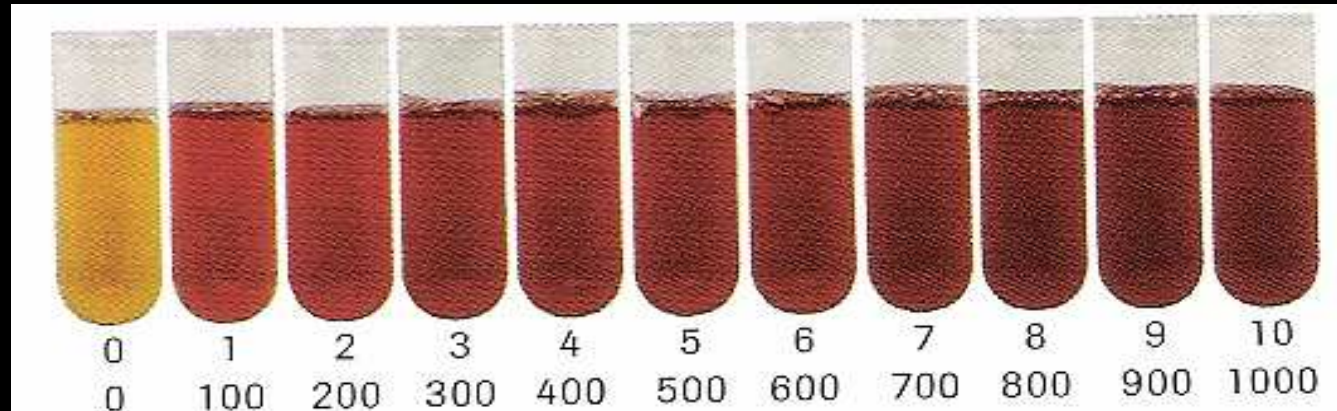


Le sujet principal

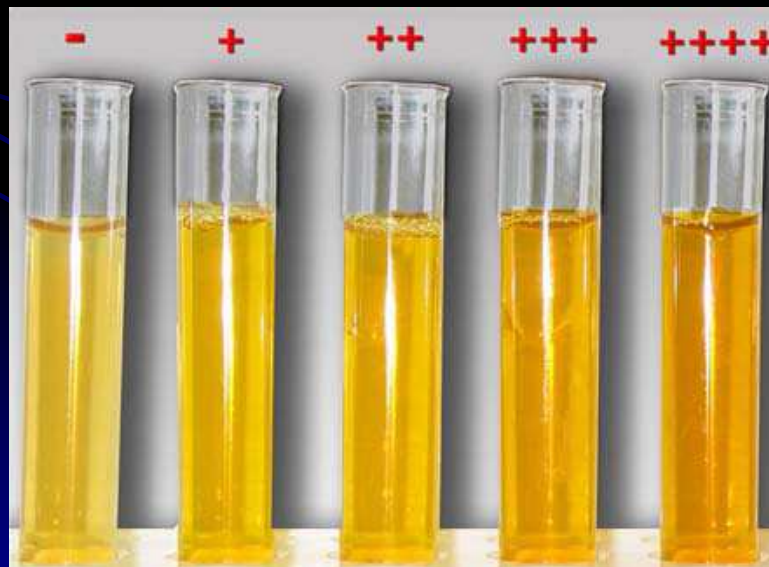
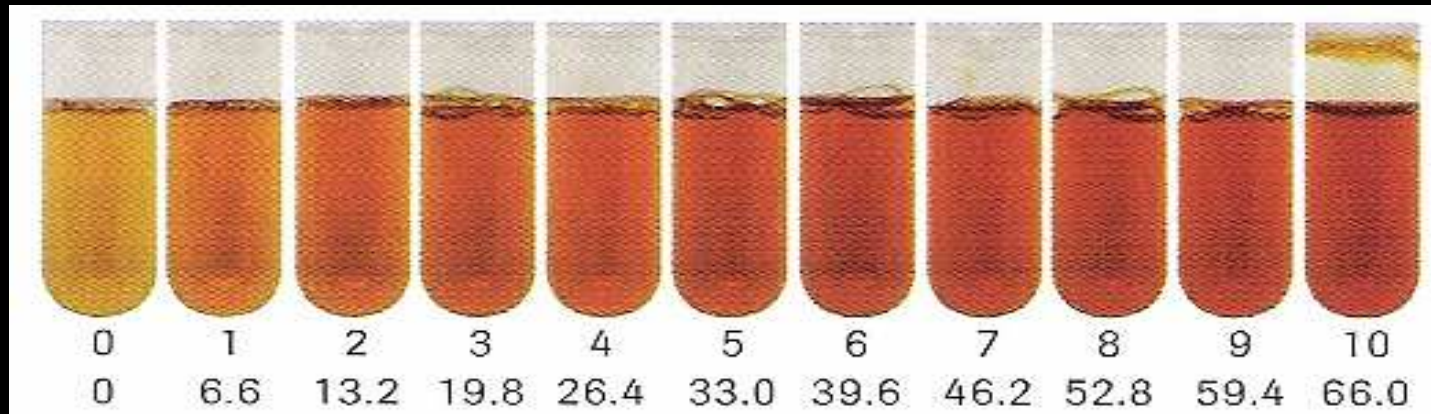
Les indices !



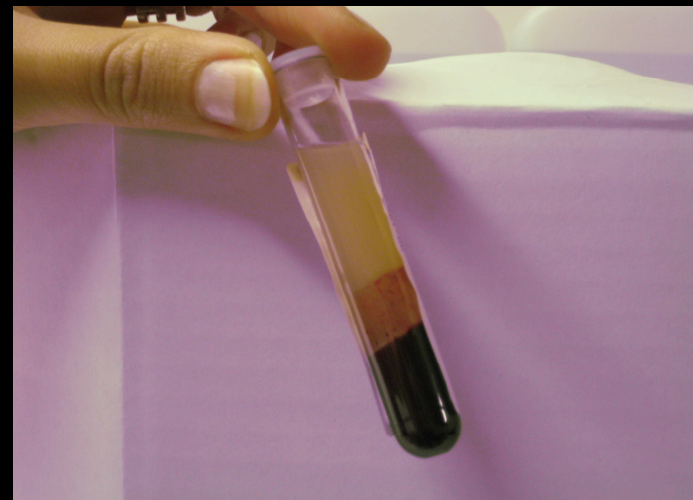
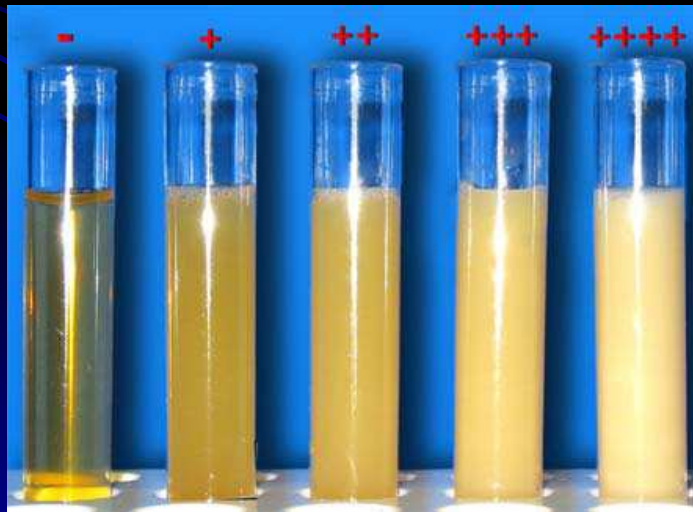
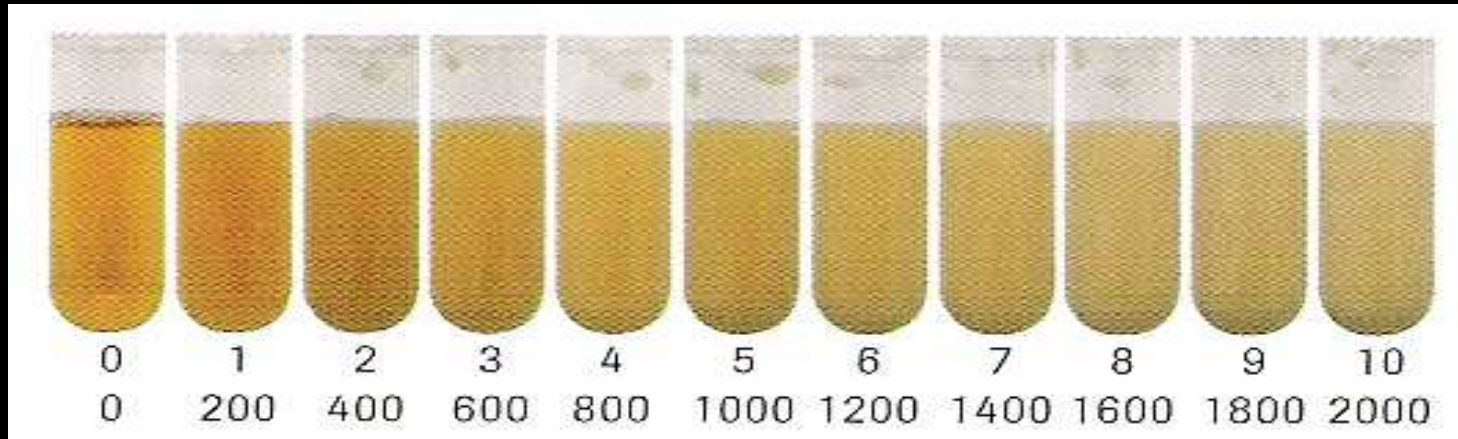
# Hémolyse



# Ictère



# Turbidité



# Macroscopiquement

Phase pré-analytique : mise en évidence d'une interférence visible :

→ plusieurs *inconvenients* : subjectif, lent, difficile à mettre en oeuvre sur les petits conditionnements et son expression reste

❖ qualitative

ou

❖ semi-quantitative(+, ++ ou +++).

# Les mécanismes d'interférences

Les interférences visibles relèvent principalement de trois mécanismes :

- mécanisme de surcharge provoqué par l'hémolyse (ex :  $K^+$ , LDH...).
- mécanisme optique.
- mécanisme chimique.

# Conséquences

➤ Les conséquences de ces interférences sur les paramètres sensibles:

➤ une surestimation

OU

➤ une sous-estimation des résultats.

➤ Elles dépendent de plusieurs facteurs :

➤ nature et concentration de l'élément à doser.

➤ technique utilisée.

➤ intensité de l'interférence visible.

# Au CHU...

- **Les automates de biochimie réalisent des indices.**
- **Les indices = définis dans GLIMS en tant qu'analyses.**
  - INDH (indice d'hémolyse).
  - INDI (indice d'ictère).
  - INDL (indice de lipémie).
- **Les indices = en entrée de procédure.**
- **Configuration en double de ces analyses**
  - une analyse qui prendra la valeur brute, transmise par l'analyseur.
  - une analyse qui prendra une valeur interprétée en fonction des indices.

# Au CHU...

- Les analyses qui peuvent être affectées par une ou plusieurs interférences existent sous deux formes :
- Le code test principal qui prend comme mnémonique le même nom que le code-demande (le code qui sera encodé) Ce mnémonique recevra la valeur brute qui provient de l'analyseur.
- Le code-demande qui figure dans la configuration de l'analyse est le nom du test suivi de « \_raw ». Ce code prend des valeurs numériques, des unités, valeurs de référence pas nécessaires, est un code interne. Le code avec indice est le même code avec l'extension « \_ind » : à ce code correspond un résultat interprété en fonction des indices. Il correspond au résultat qui sera rendu au prescripteur.
- Le code-demande qui figure dans la configuration de l'analyse est le nom du test principal.
- Ce code est configuré comme visible avec des valeurs numériques, des unités, des valeurs de référence

# ***EXEMPLE***

- ***EXEMPLE : procédure URG\_INDICES\_CK***

***Entrée de procédure : CK, INDH, INDL***

***Sortie de procédure : CK\_ind***

***MISPL associé :***

***string result ;***

***result := .InputResult("CK").rawvalue;***

***if INDL > 250 then***

***result := "LIP";***

***Else Endlf;***

- ***If INDH > 500 then***

***result := "HEM";***

***Else***

***Endlf;***

***return result;***



# Exemple

CHU de Liège !!! PRODUCTION / SEGI !!! \*\* UNOFFICIAL VERSION \*\*

Démarrer Enregistrement Modifier Afficher Fenêtre Résultat Aide

Mat ANAL Classif. analyses CODES DEM. Analyseurs METHODES D' EVAL PROC ModWL Editer Fax Scan Ech

Echantillons

Analyse	Valeur	Valab	Passage préc	Alr	Eta	N	Borne	Précédent (-1)	Délai	Précédent (-2)	Délai
TGO_ind	25 UI/L	?	?	0	Dsp	14-40		*24	16 m		
TGP_ind	21 UI/L	?	?	0	Val	6-40		28	16 m		
GGT	21 UI/L	?	?	0	Dsp	6-40		*28	16 m		
AST	11 UI/L	?	?	0	Val	5-50		24	16 m		
ALT	177 UI/L	?	?	0	Val	5-50		24	16 m		
ALP	177 UI/L	?	?	0	Val	240-480		388	16 m		
ALP	177 UI/L	?	?	0	Dsp	240-480		388	16 m		
ALP	177 UI/L	?	?	0	Val	40-124					
PAL_ind	85 UI/L	?	?	0	Dsp	40-124					
AMY	51 UI/L	?	?	0	Val	20-90					
AMY_ind	51 UI/L	?	?	0	Dsp	20-90					
LIP	27 UI/L	?	?	0	Val	16-63					
LIP_ind	27 UI/L	?	?	0	Dsp	16-63					
CK	77 UI/L	?	?	0	Val	30-175					
CK_ind	77 UI/L	?	?	0	Dsp	30-175					
CHT	1.84 g/L	?	?	0	Val			1.98	16 m		
CHT_ind	1.84 g/L	?	?	0	Dsp	<1.90		1.98	16 m		
HDL	0.45 g/L	?	?	0	Val			*0.53	16 m		
HDL_ind	0.45 g/L	?	?	0	Dsp			0.53	16 m		
INDH	19	?	?	0	Val			1	16 m		
INDI	1	?	?	0	Val			0	16 m		
INDL	16	?	?	0	Val			19	16 m		

4 échantillons sélectionnés

Validier Sauter Options... Fermer C124471 adm

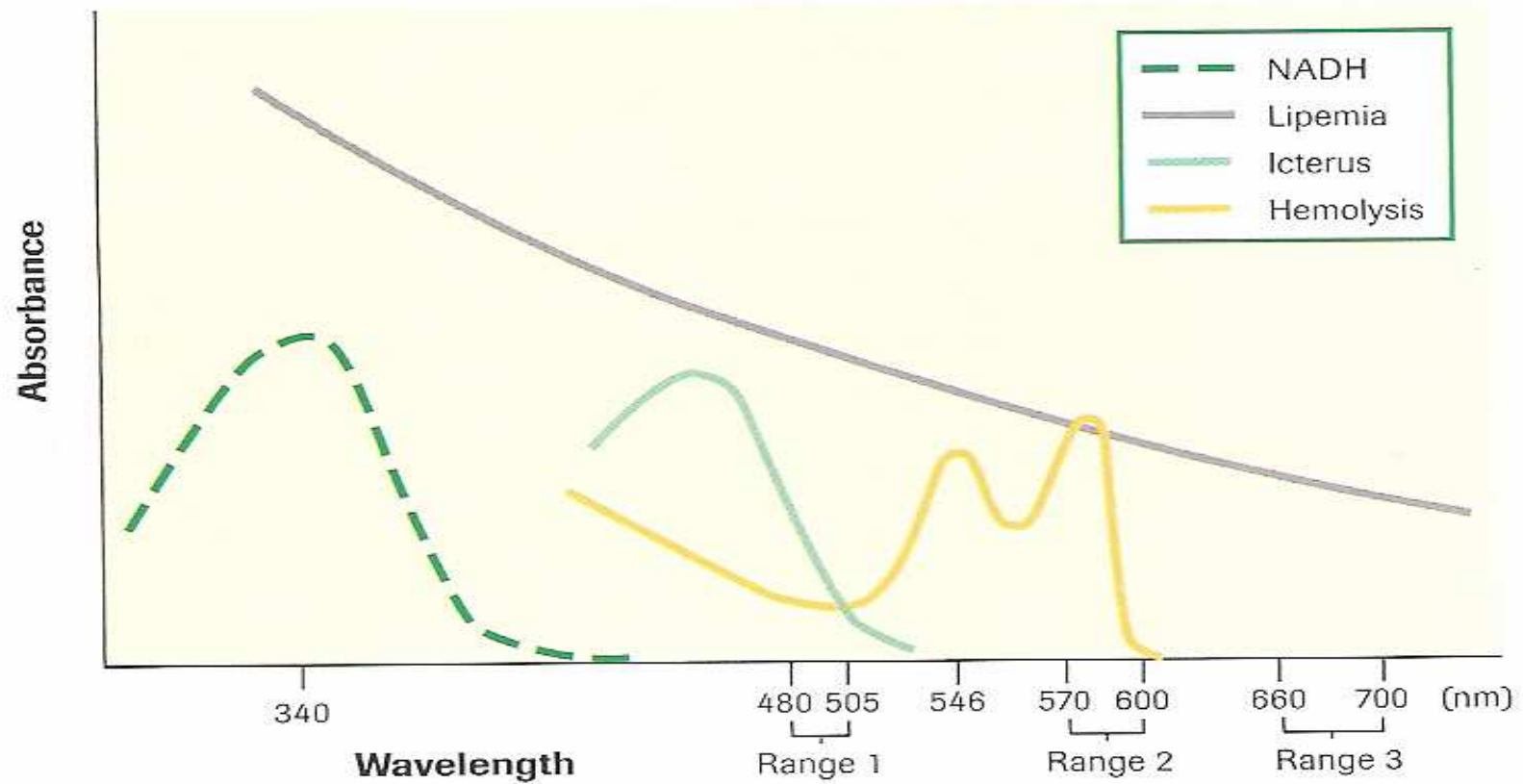
démarrer Omnipro 4.2.0.F 27/1... cardiac biomarker - P... Séminaire Aspect des... CHU de Liège !!! P R ... FR 10:31

Mesure des indices

# Au CHU...

- Les analyses qui peuvent être affectées par une ou plusieurs interférences existent sous deux formes :
- Le code test principal qui prend comme mnémonique le même nom que le code-demande (le code qui sera encodé) Ce mnémonique recevra la valeur brute qui provient de l'analyseur.
- Le code-demande qui figure dans la configuration de l'analyse est le nom du test suivi de « \_raw ». Ce code prend des valeurs numériques, des unités, valeurs de référence pas nécessaires, est un code interne. Le code avec indice est le même code avec l'extension « \_ind » : à ce code correspond un résultat interprété en fonction des indices. Il correspond au résultat qui sera rendu au prescripteur.
- Le code-demande qui figure dans la configuration de l'analyse est le nom du test principal.
- Ce code est configuré comme visible avec des valeurs numériques, des unités, des valeurs de référence

# Spectre d'absorption



# Les indices sériques au CHU de Liège...

- Un aliquot de l'échantillon patient est dilué dans du NaCl 0.9% → mesure de l'absorbance aux 3 paires de longueurs d'ondes
  - 660/700 nm
  - 570/600 nm
  - 480/505 nm
- Ces absorbances sont alors multipliées par un facteur → une valeur
  - 0-1000 mg/dl Lipémie
  - 0-1000 mg/dl Hémolyse
  - 0-60 mg/dl Ictère



Selon Roche®

# Méthode

Les paramètres biochimiques sériques étudiés :

- Sodium
- Potassium
- Chlorure
- Bicarbonates
- Urée
- Glucose
- CK
- PAL
- LDH
- Bilirubine directe
- Bilirubine totale
- Cholestérol
- Triglycérides
- Phosphates
- CRP
- Magnésium
- TGO
- TGP
- Amylase
- Protéines
- Lipase
- GGT
- Calcium
- Cholinestérase
- Fer
- Lactate
- Créatinine

# Revoir les indices de la firme!!

ICTERE

HEMOLYSE

ou de solution physiologique de chlorure de sodium. L'analyseur tient compte de cette dilution lors du calcul du résultat.  
Analyseurs Roche/Hitachi 917/MODULAR P :  
Les échantillons d'urine sont dilués automatiquement sur l'analyseur avant l'analyse dans le rapport 1 + 19 à l'aide d'eau distillée, d'eau déionisée ou de solution physiologique de chlorure de sodium. L'analyseur tient compte de cette dilution lors du calcul du résultat.

Stabilité :<sup>6</sup>

Sérum, plasma	7 jours entre 15 et 25°C
	7 jours entre 2 et 8°C
	3 mois entre -15 et -25°C
Urine	2 jours entre 15 et 25°C
	6 jours entre 2 et 8°C
	6 mois entre -15 et -25°C

#### Matériel fourni

Voir paragraphe « Réactifs - composition et concentrations ».

#### Matériel auxiliaire nécessaire

- Calibrateur : C.f.a.s. (Calibrator for automated systems), Réf. 10759350
- Contrôles : Precinorm U, par ex. Réf. 10171743 ou Precinorm U plus, Réf. 12149435  
Precipath U, Réf. 10171778 ou Precipath U plus, Réf. 12149443  
Precinorm PUC, Réf. 03121313  
Precipath PUC, Réf. 0321291
- Solution de NaCl 0,9%
- Equipement habituel de laboratoire

#### Mode opératoire

Pour garantir le bon fonctionnement du test, se conformer aux instructions relatives à l'analyseur utilisé indiquées dans la présente notice. Pour les instructions spécifiques de l'analyseur, se référer au manuel d'utilisation approprié.  
En cas d'utilisation de tests non validés par Roche, les performances analytiques ne sont pas garanties et doivent être définies par l'utilisateur.

#### Calibration

Traçabilité<sup>7</sup> : la méthode a été standardisée par rapport à la DI-SM.  
S1 : Solution de NaCl 0,9%  
S2 : C.f.a.s.

#### Fréquence des calibrations

Une recalibration est recommandée :

- calibration blanc tous les 28 jours
- en cas de changement de lot de réactif (calibration en deux points)
- calibration en 2 points si le contrôle de qualité l'exige

#### Contrôle de qualité

#### Limites d'utilisation - interférences<sup>7,8,9,10</sup>

Critère d'acceptabilité : recouvrement  $\pm 10\%$  par rapport à la valeur initiale (concentrations initiales en créatinine de 1 mg/dL dans le sérum et de 100 mg/dL dans l'urine).

#### Sérum/plasma

Ictère : pas d'interférence significative jusqu'à un indice I de 25 (concentrations approximatives en bilirubine conjuguée et non conjuguée : 25 mg/dL ou 428  $\mu\text{mol/L}$ ).

Hémolyse : pas d'interférence significative jusqu'à un indice H de 1000 (concentration approximative d'hémoglobine : 1000 mg/dL ou 621  $\mu\text{mol/L}$ ).

Lipémie (Intralipid) : pas d'interférence significative par la lipémie jusqu'à un indice L (pour Lipémie) de 1000. Il n'y a pas de concordance satisfaisante entre la turbidité et la concentration en triglycérides.

L'acide ascorbique < 300 mg/L (1,7 mmol/L) ne gêne pas.

Le dobésilate de calcium (Dexium, par ex.) conduit, à partir de 5 mg/L (12,0  $\mu\text{mol/L}$ ), à des taux de récupération par défaut.

L'hydroxocobalamine (Cyanokit), aux concentrations thérapeutiques, conduit à l'obtention de résultats augmentés.

La N-éthylglycine à des concentrations thérapeutiques et la D,L-proline à des concentrations  $\geq 1$  mmol/L (115 mg/L) conduisent à des résultats faussement élevés. Les antibiotiques à base de céphalosporine n'ont aucune influence sur le dosage. L'influence de 15 médicaments fréquemment administrés a été testée *in vitro* : aucune perturbation du dosage n'a été observée.

Les échantillons hémolysés de nouveau-nés, d'enfants et d'adultes dont le taux d'HbF est  $\geq 600$  mg/dL conduisent à une perturbation du dosage.<sup>11</sup>

Dans de très rares cas, la gammopathie, en particulier de type IgM (macroglobulinémie de Waldenström), peut conduire à des résultats erronés. L'estimation de la vitesse de filtration glomérulaire à partir de la formule de Schwartz peut conduire à une surestimation.<sup>12</sup>

Pour le diagnostic, les résultats doivent toujours être confrontés aux données de l'anamnèse du patient, au tableau clinique et aux résultats d'autres examens.

#### Urine

Ictère : pas d'interférence significative par la bilirubine conjuguée jusqu'à env. 70 mg/dL (1197  $\mu\text{mol/L}$ ).

Hémolyse : pas d'interférence significative par l'hémoglobine jusqu'à env. 1000 mg/dL (621  $\mu\text{mol/L}$ ).

L'acide ascorbique < 300 mg/L (1,7 mmol/L), le glucose < 2000 mg/dL (111 mmol/L) et l'urobilinogène < 40 mg/dL (676  $\mu\text{mol/L}$ ) n'interfèrent pas.

Le dobésilate de calcium (Dexium, par ex.) et l' $\alpha$ -méthylidopa conduisent à des taux de récupération par défaut. L'influence de 10 médicaments fréquemment administrés a été testée *in vitro* : aucune perturbation du dosage n'a été observée.

Lavages spéciaux : sur les analyseurs Roche/Hitachi, certaines combinaisons de tests nécessitent la programmation d'étapes de lavage spéciales. Pour de plus amples informations sur les combinaisons de tests nécessitant des lavages spéciaux, se référer à la dernière version des listes de contaminations (Carry-over evasion lists) et aux instructions données dans le manuel de l'utilisateur.

Pour les USA : pour les étapes de lavage particulières, se référer

LIPEMIE

# METHODE

- Toutes les déterminations ont été effectuées en double sur l'automate MODULAR (Roche®, Mannheim, Germany), en utilisant les réactifs fournis par le fabricant.
- L'analyse des résultats a été réalisée à l'aide du protocole de validation définie par Vassault *et al.*
- Critère d'acceptabilité : variation de +/- 10 % par rapport à la valeur initiale.

# Préparation de la surcharge

- **BILIRUBINE (Sigma référence B-4126)**

Dans un récipient entouré de papier d'aluminium, peser 90 mg de bilirubine.

Ajouter 7.5 ml de soude molaire et après dissolution , 22.5 ml d'eau distillée. Surcharger rapidement les sérums.

La solution de surcharge doit être à l'abri de la lumière.

- **HEMOGLOBINE**

Prendre 5 tubes EDTA, les vider dans grand tube.

Placer ce tube à la centrifugeuse.

Eliminer le plasma.

Ajouter sur le culot du liquide physiologique, mélanger, centrifuger, éliminer la phase supérieure, recommencer l'opération trois fois.

Ajouter de l'eau distillée (1/3 du volume), centrifuger.

Mettre au congélateur pendant quelques heures (ne pas retirer la phase supérieure).

Au moment de l'emploi, sortir du congélateur, laisser décongeler, centrifuger et doser l'hémoglobine.

- **TURBIDITE**

Intralipide ou structolipide 20% .

# Préparation des échantillons

Dosage hématologique : ?

Dilution	Sérum $\mu\text{l}$	Hémolysat $\mu\text{l}$	NaCl 0.9 % $\mu\text{l}$	Conc Hb $\mu\text{mol/l}$	Conc Hb g/l
Dil 0	900	0	100		
Dil 1	900	5	95		
Dil 2	900	10	90		
Dil 3	900	20	80		
Dil 4	900	35	65		
Dil 5	900	50	50		
Dil 6	900	75	25		
Dil 7	900	100	0		

2 séries en double

# Résultats

DILUTION	Conc Hb g/l	CK	%
0	0	134	0
5	0,235	138,5	3,35
10	0,47	143	6,71
20	0,94	147	9,7
35	1,645	155	15,67
50	2,35	164,5	22,76
75	3,53	177	32,08
100	4,7	194,5	45,15

REJET

Pas d'interférence significatives en dessous de 94 mg/dl

Firme pas d'interférence en dessous de 100 mg/dl

→ INDH: 100

# Préparation des échantillons

Structolipid 20 % : 200 gr de triglycérides / litre

Dilution	Sérum $\mu\text{l}$	Lipides $\mu\text{l}$	NaCl 0.9 % $\mu\text{l}$	Conc lip g/l	Conc lip mg/dl
Dil 0	900	0	100		
Dil 1	900	1	99		
Dil 2	900	1.25	98.75		
Dil 3	900	2.5	97.5		
Dil 4	900	5	95		
Dil 5	900	10	90		
Dil 6	900	20	80		
Dil 7	900	50	50		
Dil 8	900	100	0		

2 séries en double

# Résultats

DILUTION	Conc lip mg/dl	HDL	%
0	0	0,331	100
1	20	0,341	3,02
1,25	25	0,3395	2,56
2,5	50	0,339	2,42
5	100	0,3395	2,57
10	200	0,3315	0,15
20	400	0,3235	-2,27
50	1000	0,2985	-9,82
100	2000	0,276	-16,62

REJET

Pas d'interférence significatives en dessous de 1000 mg/dl

→ INDL: 1000

Firme pas d'interférences en dessous de 2000 mg/dl

→ INDL: 2000

# Préparation des échantillons

Solution de départ : ?

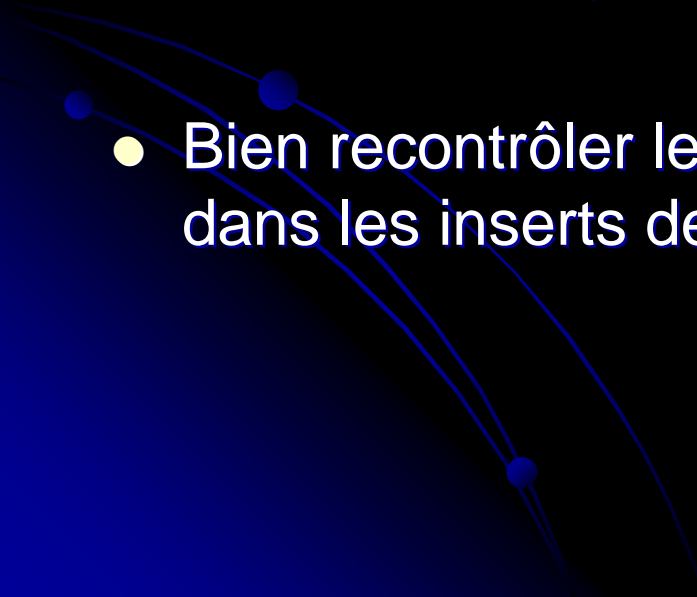
Dilution	Sérum $\mu\text{l}$	Sol Bil $\mu\text{l}$	NaCl 0.9 % $\mu\text{l}$	Conc Bil T mg/l
Dil 0	900	0	100	
Dil 1	900	5	95	
Dil 2	900	10	90	
Dil 3	900	20	80	
Dil 4	900	50	50	
Dil 5	900	75	25	
Dil 6	900	100	0	

2 séries en double

# Résultats

ANALYSES	HEMOLYSE	LIPEMIE	ICTERE
NA	↘	=	↗
K	↗	=	=
CL	↘	↘	↘
AMY	=	↗	=
BCB	=	↘	↗
BIC	↘	↗	S.O.
BIT	↘	=	S.O.
CHE	=	=	↘
CHT	↗	=	↘
LDL	=	↘	=
HDL	=	↘	=
CPK	↗	↘	↘
CRP	=	=	↘
FE	↗	↘	=
GGT	=	=	↘
GLD	↗	↘	↘
LDH	↗	↘	↘
LIP	=	=	↘
MG	↘	↗	↘
P	=	↗	=
PAL	↘	=	↘
PT	=	=	↘
TG	↗	S.O.	=
TGO	↗	=	↘
UREE	=	=	=
CA	=	=	=
CR	=	=	=
G	=	=	=
LAC	=	=	=
TGP	=	=	↘

# DISCUSSION

- L'importance de ces interférences chromatiques est variable selon les méthodes de dosages et/ou des automates différents utilisés.
  - Dans la pratique quotidienne, il s'est avéré que les sérums hémolysés sont de loin les plus fréquents.
  - Bien reconstrôler les valeurs des interférences données dans les inserts de kit des firmes.
- 

Merci pour votre attention.

