



Hôpital  
Saint Joseph  
Saint Luc



COLLEGE NATIONAL DE BIOCHIMIE DES HÔPITAUX

*Organisme de formation continue n°82 07 00551 07*



**31<sup>èmes</sup> Journées Nationales**

**Jeudi 26 et vendredi 27 janvier 2023**

**hôtel Ibis Paris 17 Clichy-Batignolles**

# Présentation HIL

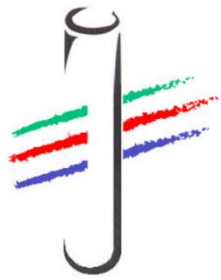


REGINE CARTIER

Service de Biochimie et Biologie moléculaire – CHU de Lyon

MATTHIEU PECQUET

Service de Biologie – Hôpital Saint Joseph Saint Luc - Lyon



COLLEGE NATIONAL DE BIOCHIMIE DES HÔPITAUX

Organisme de formation continue n°82 07 00551 07

**31<sup>èmes</sup> Journées Nationales**

**Jeudi 26 et vendredi 27 janvier 2023**

hôtel Ibis Paris 17 Clichy-Batignolles

**DECLARATION D'INTERET  
DANS LE CADRE DE MISSIONS DE FORMATION  
RÉALISÉES POUR LE CNBH**

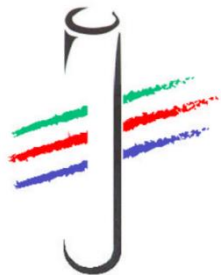
Dr Régine CARTIER.

Exerçant aux Hospices Civils de LYON – Groupement Hospitalier Est – Service de biochimie et biologie moléculaire.

déclare sur l'honneur

**Ne pas avoir d'intérêt**, direct ou indirect (financier), avec les entreprises pharmaceutiques, du diagnostic ou d'édition de logiciels susceptible de modifier mon jugement ou mes propos, **concernant le sujet et les DMDIV présentés.**

*Citer ici les liens mentionnés sur la déclaration s'il en existe, sinon supprimer cette mention*



COLLEGE NATIONAL DE BIOCHIMIE DES HÔPITAUX

Organisme de formation continue n°82 07 00551 07

**31<sup>èmes</sup> Journées Nationales**

**Jeudi 26 et vendredi 27 janvier 2023**

hôtel Ibis Paris 17 Clichy-Batignolles

**DECLARATION D'INTERET  
DANS LE CADRE DE MISSIONS DE FORMATION  
RÉALISÉES POUR LE CNBH**

Dr Pecquet Matthieu  
Exerçant à l'Hôpital St Joseph St Luc au LBM - LYON  
déclare sur l'honneur

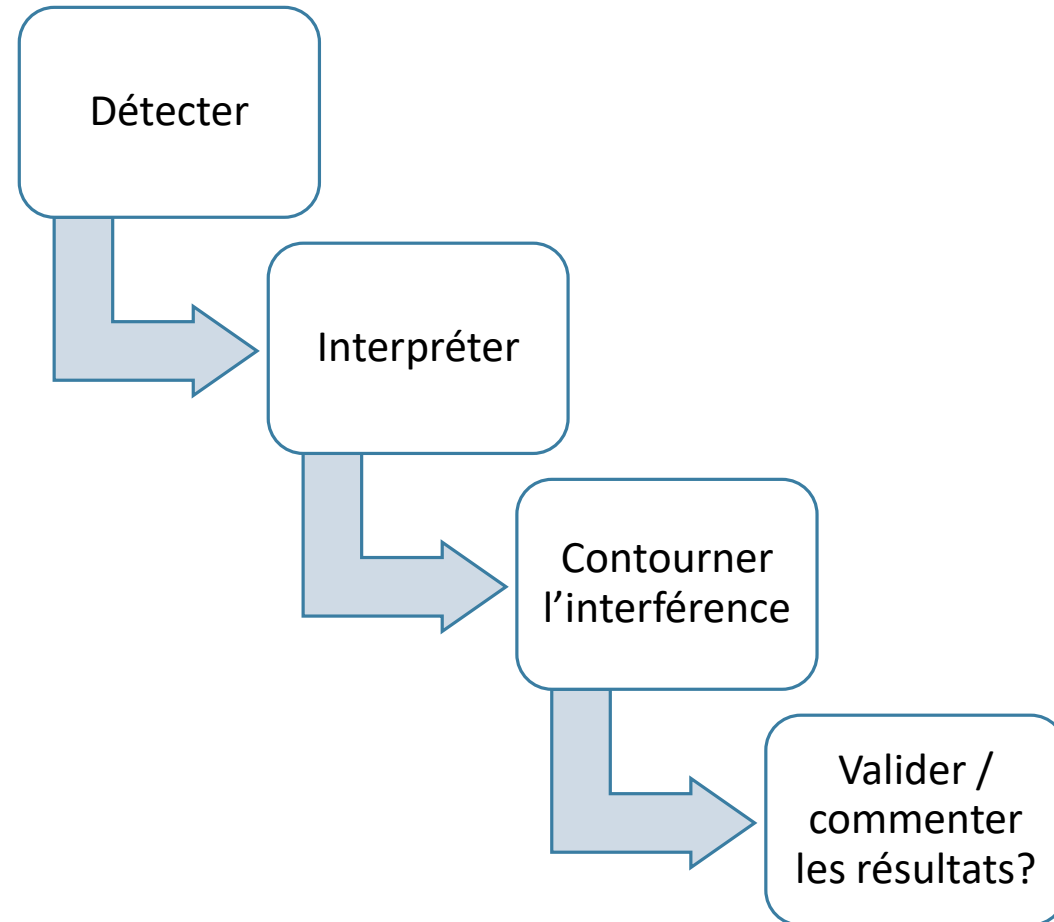
---

**ne pas avoir d'intérêt**, direct ou indirect (financier), avec les entreprises pharmaceutiques, du diagnostic ou d'édition de logiciels susceptible de modifier mon jugement ou mes propos, **concernant le sujet et les DMDIV présentés.**

*Citer ici les liens mentionnés sur la déclaration s'il en existe, sinon supprimer cette mention*

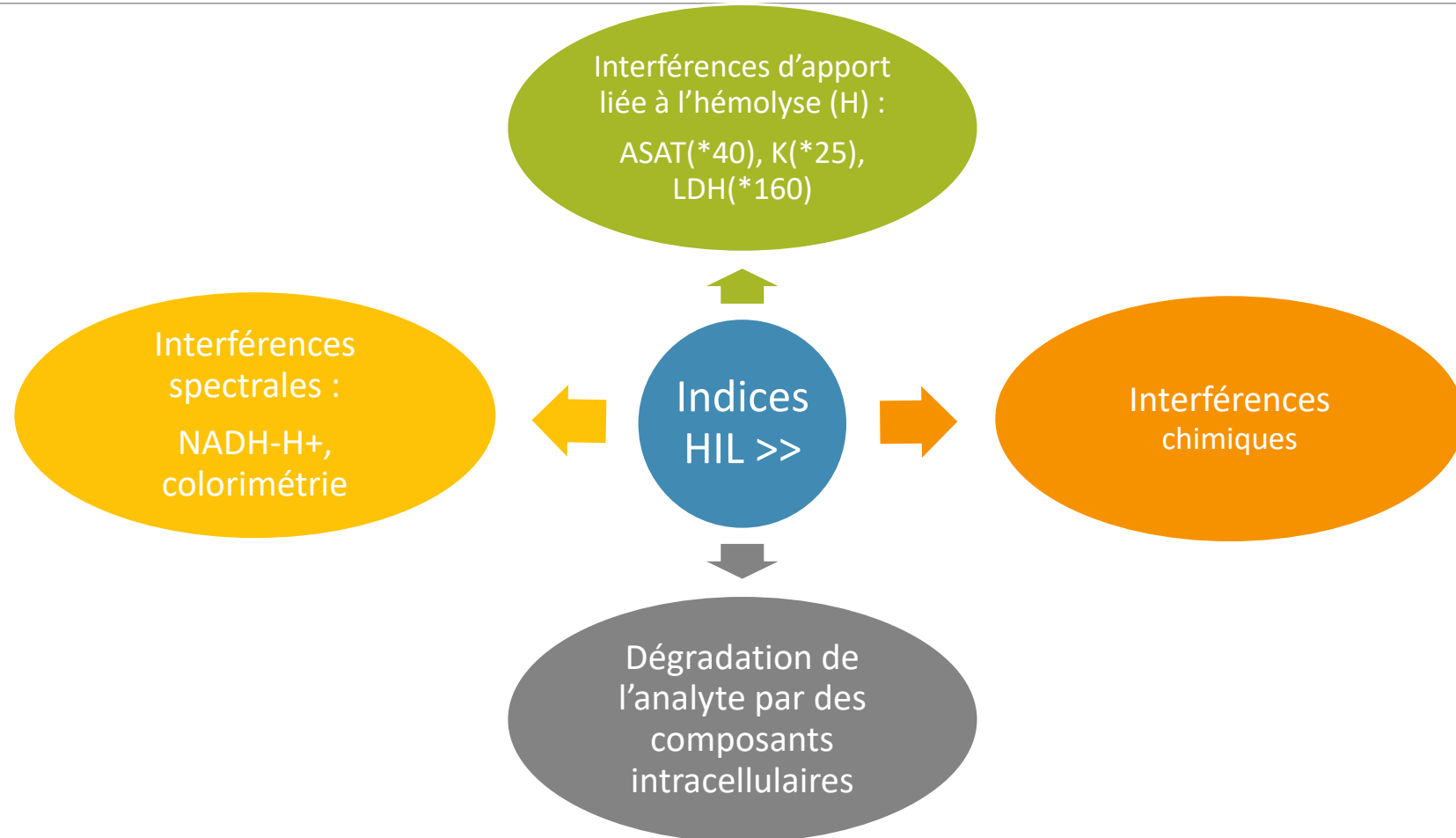
# PLAN : rappel de la problématique

---



# Intro : rappel de la problématique

---



# Fréquence : Hémolyse / Ictère / Lipémie

%	Hémolyse 30 – 100 mg/dl	Hémolyse > 100 mg/dl	Ictérique I2-I3	Lipémie L3- L4	H	I	L
Tube héparine Li	14,2 %	3,7 %	1,9 %	1,6 %	17,9 %	5,6 %	8,7 %
Tube sec	9,2 %	1,6 %	0,8 %	1,2 %	10,7 %	4,9 %	5 %

Données janvier 2018 : Biochimie du CBPE - total de 42440 tubes

Enquête KIMMS de RCPAQAP (Australie ) 2010 -2014 : Hémolyse dans le top 3 des rejets d'échantillons - de 10,4 % à 31 % pour services d'urgences

- Prélèvement Hémolysé le plus fréquent
- Taux hémolyse faible majoritairement → quel impact ?

# Complexité des interférences:

3 interférences visibles : **H – I – L**

---

- ✓ **Degré d'intensité** de l'interférence
- ✓ Interférences **croisées** : *ex plasma hémolysé lactescent*
- ✓ Nombre d'analytes impactés peut être potentiellement important : en chimie, immunodosages, en hémostase
- ✓ Interférence variable selon le **principe analytique** , selon **mise en œuvre sur** l'analyseur (*couple automate/réactif*)
- ✓ Impact variable selon la **concentration de l'analyte** : valeurs de référence / pathologiques.
- ✓ Quels critères d'interprétation utilisés : comment répondre aux besoins cliniques : compromis entre trop grande sévérité / permissivité

# Objectifs enquêtes PBOQ : EEQ

---

- Evaluer **la précision** (reproductibilité) pour les résultats HIL quantitatifs (CV)
  - Comparer les indices HIL entre les analyseurs de **biochimie et hémostase**
  - Comportement HIL si **interférences croisées** → envoi d'échantillons mixtes : hémolysé et/ou lipémique et/ ictérique
  - Tester et comparer l'interférence de l'hémolyse sur un panel d'analytes de biochimie au travers de groupes de pairs analytiques
- cf. travaux GP interférences CNBH 2010-2015
- Aider les laboratoires dans **leurs pratiques**

1ere enquête Pilote **en 2017** : 315 laboratoires → 466 réponses

Envoi de 2 sérums par laboratoire : 1 mL natif + 1mL surchargé en hémoglobine [1 g/L] Mesure des indices HIL + 18 paramètres de biochimie

Questionnaire sur les pratiques



# PBQ : programmes HIL depuis 2018

---

## Analyseurs de Biochimie et hémostase

- ✓ 4 enquêtes/an avec 2 échantillons
- ✓ échantillons lyophilisés, différents profils, 3 fournisseurs testés
  - Simple : hémolysé, ictérique ou lactescent
  - mixte : hémolyse/ictère hémolyse/lactescence .. Ictère/lactescence
- ✓ Tests de stabilité, homogénéité

En 2022 : plus de 650 Laboratoires participants soit 1200 modules

# Seuils interprétation

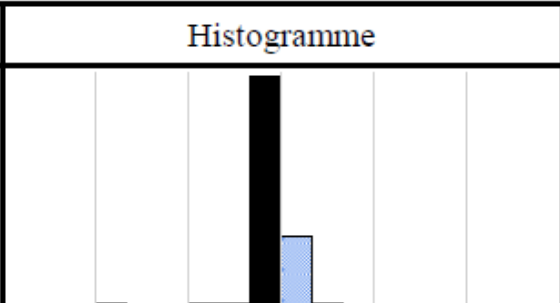
---

Seuils d'interprétation quantitatif		
Non hémolysé	Non ictérique	Non Lipémique
H < 20 mg/dL	I < 2 mg/dl	L < 100 mg/dl
<b>Notation : Limites acceptables : 30%</b>		

Notation résultat semi-quantitatif	
intervalle conforme défini par la moyenne du « toutes techniques » quantitatives	
<b>Résultat conforme : note TB</b>	<b>Résultat erroné : note à 4</b>

## 22BI08 / Indice d'hémolyse quantitatif (mg/dL)

Limites acceptables à  $\pm 30,0\%$  (ProBioQual taux moyen)  
Statistiques robustes (algorithme A - norme ISO 13528:2015)

Groupes techniques/pairs	Codage	Histogramme	n	Cible	CV	E/M%	Limites
ENSEMBLE DES RESULTATS	MD		811	155,0	4,4		

Echantillon hémolysé (H = 105,6 à 205,4 mg/dL), ne

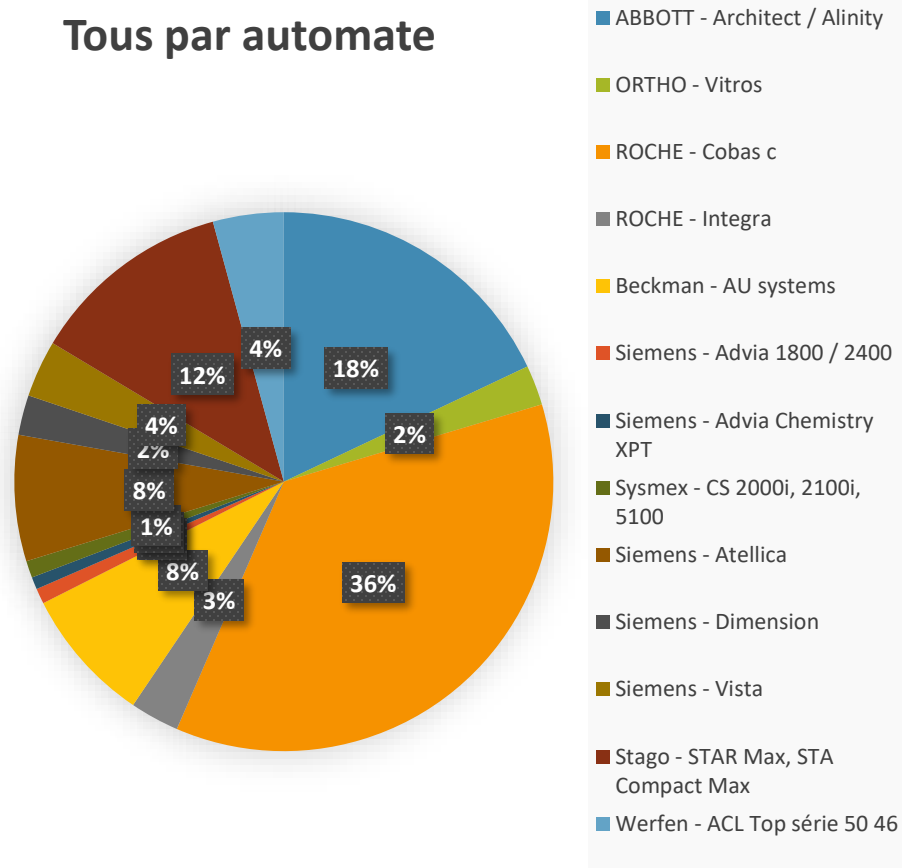
conforme si compris  
entre 106 et 205 mg/dl

Analyseur	Nombre de participants	INDICE d'HEMOLYSE		
		Intitulé du niveau	Correspondance en mg/dL d'hémoglobine	n
Beckman - AU systems	109	++	100 à 199	102 (93,6%)
		+++	200 à 299	7 (6,4%)
Beckman - DxC/Synchron	4	1-2	0 à 75	2 (50%)
		5-6	150 à 225	2 (50%)
Siemens - Advia Chemistry XPT	8	+	45 à 140	1 (12,5%)
		++	140 à 235	7 (87,5%)
Siemens - Advia 1800 / 2400	2	++	140 à 235	2 (100%)
Siemens - Atellica	114	1	11 à 130	7 (6,2%)
		2	131 à 249	104 (92%)
		4	500 à 749	2 (1,8%)

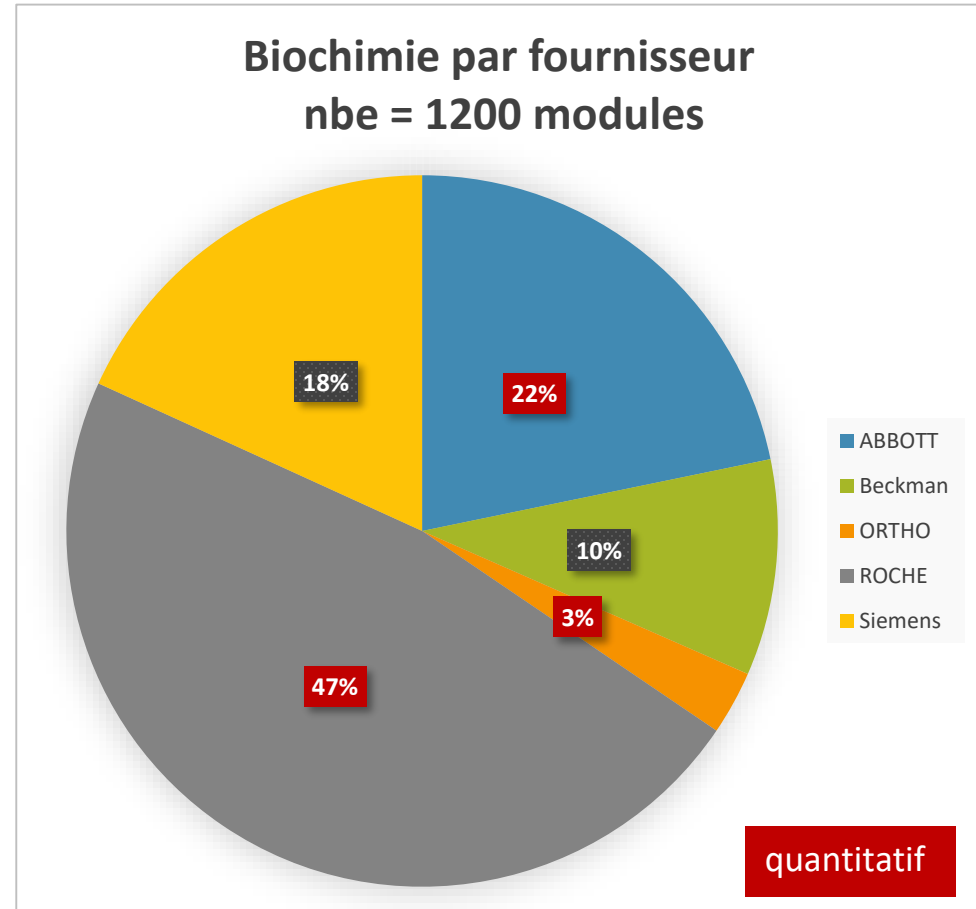
# Retour sur les enquêtes PBQ

## Répartition des utilisateurs

Tous par automate



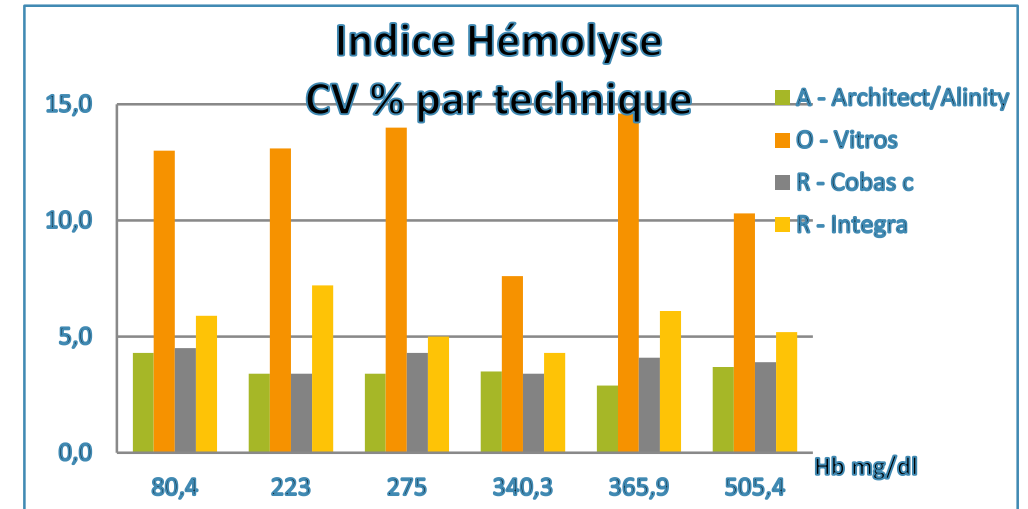
Biochimie par fournisseur  
nbe = 1200 modules



# Performances EEQ 2022

## Techniques quantitatives

Moyenne de CV (%)	Techniques			
Étiquettes de lignes	ABBOTT - Architect / Alinity	ORTHO - Vitros	ROCHE - Cobas c	ROCHE - Integra
<b>Indice de lipémie</b>	<b>3,4</b>	<b>8,7</b>	<b>4,3</b>	<b>2,9</b>
373,3	3,4	6,4	4,6	3,1
1220,2	3,3	10,9	3,9	2,7
<b>Indice d'hémolyse</b>	<b>3,6</b>	<b>12,8</b>	<b>4,5</b>	<b>6,2</b>
155	3,2	12,8	4,3	5,3
311,2	3,8	14,0	4,2	5,6
54,1	3,8	11,7	5,0	7,7
<b>Indice d'ictère</b>	<b>5,2</b>	<b>7,7</b>	<b>5,8</b>	<b>2,8</b>
11,69	5,2	8,8	6,9	4,6
20,45	5,2	6,5	4,6	0,9

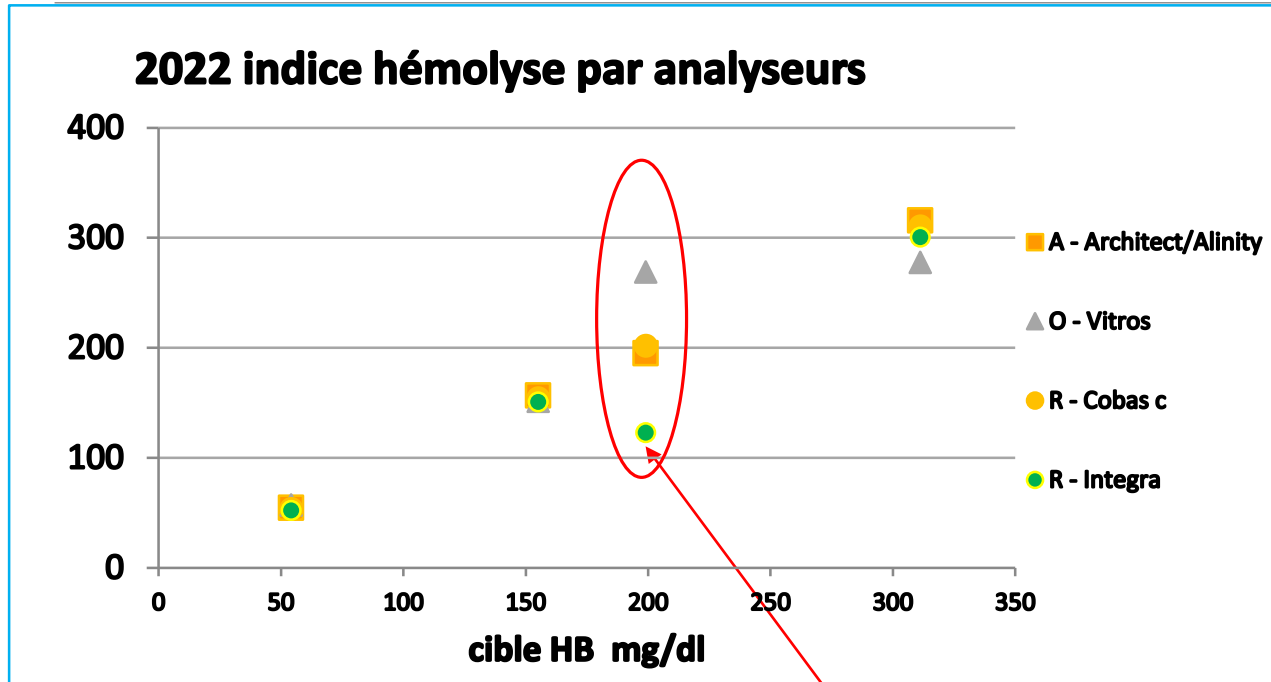


2017 - 2021 Sérums surchargés hémolysat

CV Satisfaisants

98% des laboratoires conformes avec LA à 30%

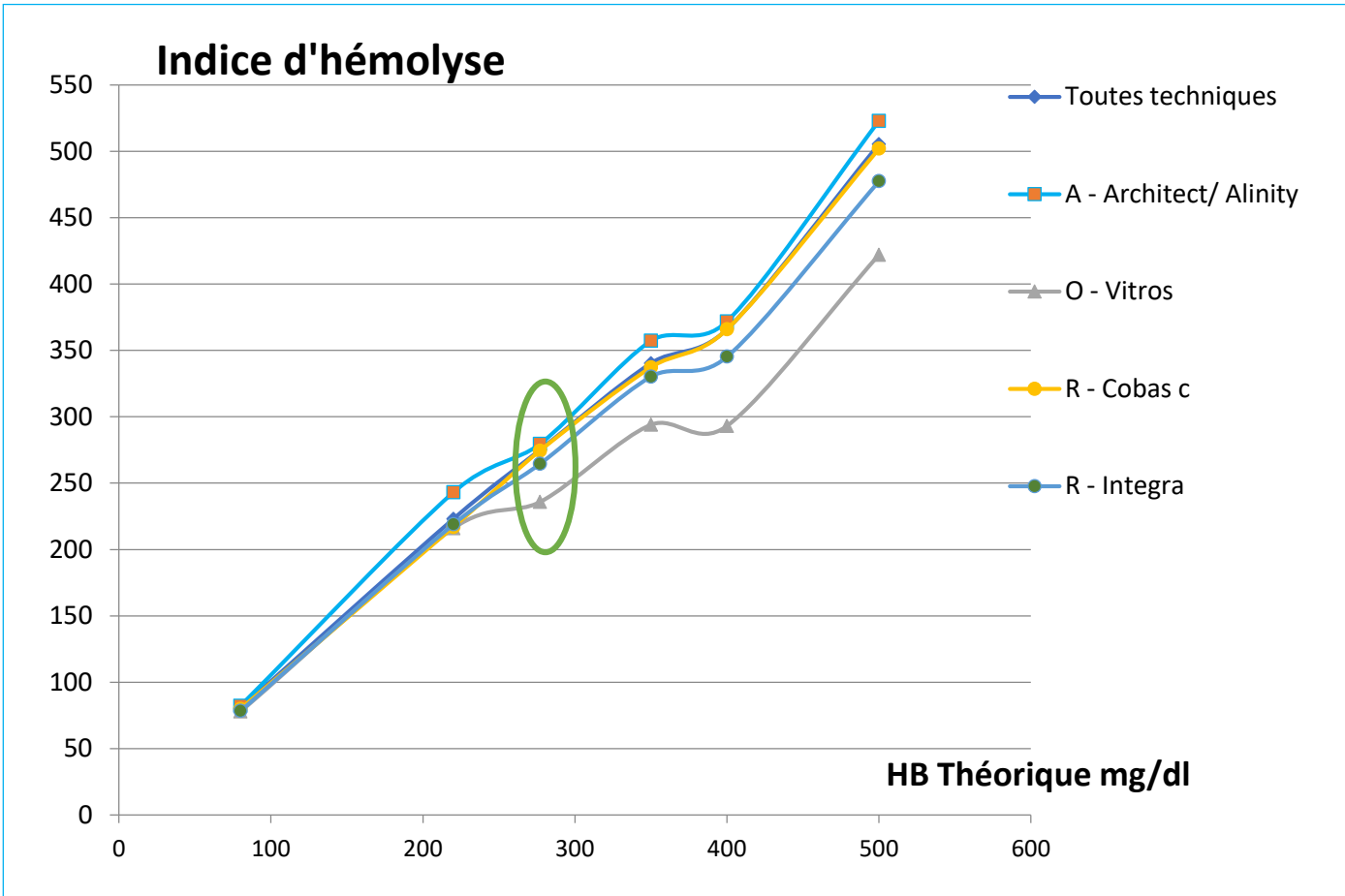
# Indice H : comparaison valeurs quantitatives



22BI04	Moy mg/dl	CV %
TT Techn. N= 785	<b>199</b>	<b>8.2</b>
Architect	<b>195</b>	<b>4.1</b>
Vitros	<b>270</b>	<b>12.2</b>
Cobas c	<b>202</b>	<b>8.4</b>
Integra	<b>123</b>	<b>8.6</b>

**22BI04 Echantillon hémolysé et lipémique**

# Indice H : comparaison valeurs quantitatives sérums surchargés



Corrélation avec le taux théorique en hémoglobine

Hémoglobine libre (spectrophotométrie)  
CHU Nantes : 277,0 mg/dL

20B199 N=614	Moy mg/dl
TT Techn	<b>275</b>
Architect/AL	<b>279</b>
Vitros	<b>235</b>
Cobas c	<b>274</b>
Integra	<b>264</b>

# Techniques semi-quantitatives

Analyseur	Nombre de participants	INDICE d'HEMOLYSE *		
		Intitulé du niveau	Correspondance en mg/dL d'hémoglobine	n
Beckman - AU systems	111	N	< 50	23 (20,5%)
		+++++	> 500	11 (10%)
		Alarme	Alarme	77 (69,5%)
Beckman - DxC/Synchron	2	1 - 2	0 à 75	1 (50%)
		Alarme	Alarme	1 (50%)
Siemens - Advia Chemistry XPT	8	-	0 à 45	8 (100%)
Siemens - Advia 1800 / 2400	2	-	0 à 45	2 (100%)
Siemens - Atellica	114	0	≤ 10	31 (27%)
		1	11 à 130	82 (72%)
		2	131 à 249	1 (1%)
Siemens - Dimension	30	1	≤ 25	29 (96,5%)
		3	50 à 200	1 (3,5%)
Siemens - Vista	39	1	≤ 10	39 (100%)
Siemens - CS 2000i, 2100i, 5100	10	0	0 à 65	1 (10%)
		1	65 à 170	1 (10%)
		5	≥ 470	6 (60%)
		Alarme	Alarme	2 (20%)
Stago - STAR Max, STA Compact Ma	209	1	0 à 30	205 (98,5%)
		3	60 à 200	2 (1%)
		4	200 à 500	1 (0,5%)
Werfen - ACL Top série 50	64	1	0 à 100	3 (4,5%)
		2	100 à 200	61 (95,5%)

ECHANTILLON 22BI02  
Echantillon non hémolysé (H < 20 mg/dL), non ictérique (I < 2 mg/dL), lipémique (L = 520 à 1731 mg/dL)

Vérification visuelle nécessaire

Sérum lipémique

→ Indice d'hémolyse surestimé

Exemple : ACL Top, AU system

Problème nombre de longueurs d'onde de mesure ?

Problème observé avec sérum hémolysé, rendu ictérique

En rouge = résultats "erronés" (par rapport aux résultats quantitatifs)

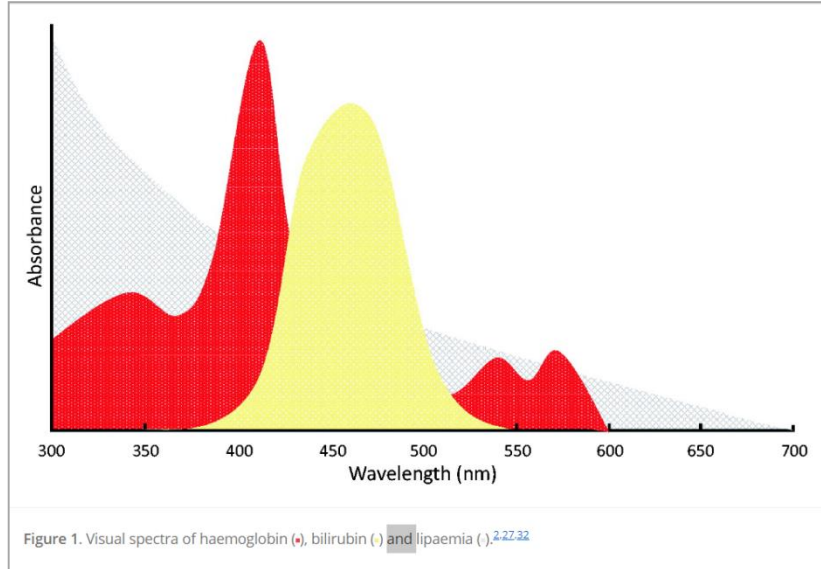


# Anomalies principales observées

---

- ✓ Ech. hémolysé, non ictérique, non lipémique : 98 à 99 % conforme pour les 3 indices
  - ✓ ACL TOP mis en défaut : détection ictère
- ✓ Ech. ictérique, non hémolysé, non lipémique : 96 à 99 % conformes pour les 3 indices
- ✓ **Ech. lipémique, non hémolysé, non ictérique** :
  - Quantitatifs : 3 indices conformes
  - Semi quantitatifs : **détection d'ictère** (ACL TOP, Au system)
- ✓ **Ech. hémolysé lipémique, non ictérique** :
  - Quantitatifs : 3 indices conformes (98 à 99 %) sauf Vitros biais positif sur indice H et négatif pour les Integra
  - Semi quantitatifs : **détection d'ictère** (ACL TOP, AU system en alarme)

# Mesure des indices selon les analyseurs



Un algorithme mathématique calculera la quantité relative

•Farrell CJ, Carter AC. Serum indices: managing assay interference. Ann Clin Biochem 2016;53(5):527-538

Analyseur	Longueurs d'onde de mesure (nm)	Calculs de l'indice
<b>ABBOTT Architect Alinity</b>	4 paires de longueurs d'onde 500/524 572/604 628/660 524/804	$H = M(a05xA1 + a06xA2 + a07xA3 + a08xA4)$ $I = M(a09xA1 + a10xA2 + a11xA3 + a12xA4)$ $L = M(a01xA1 + a02xA2 + a03xA3 + a04xA4)$
<b>BECKMAN C. AU system</b>	4 paires de longueurs d'onde H : 410/480 et 600/800 I : 480/570 et 600/800 L : 660/800	
<b>BECKMAN C. DxC/Synchron</b>	Mesure à 5 longueurs d'onde : 340, 410, 470, 600 et 670	
<b>ORTHO C. D. Vitros</b>	3 paires de longueurs d'onde H : 522/750 I : 507/776 L : 700	
<b>ROCHE Cobas c systems ( c701, c501/502, c311)</b>	3 paires de longueurs d'onde H : 570/600 ( $\Delta Abs2$ ), I : 480/505 ( $\Delta Abs1$ ), L : 660/700 ( $\Delta Abs3$ )	$H = 1/A \times [\Delta Abs2 - B \times \Delta Abs3]$ $I = 1/D \times [\Delta Abs1 - E \times (\Delta Abs2 - B \times \Delta Abs3) - F \times \Delta Abs3]$ $L = 1/C \times \Delta Abs3$ *
<b>SIEMENS Advia / Atellica</b>	3 paires de longueurs d'onde H : 571/596 I : 478/505 L : 658/694	
<b>SIEMENS Dimension Vista</b>	Mesure à 700 nm Correction pour H et I H : 405/700 I : 452/700 L : 700	
<b>Sysmex CS-2000i, CS-2100i, CS-5100</b>	3 longueurs d'onde H : 575 I : 405 L : 660	
<b>WERFEN ACL TOP 550/750</b>	3 longueurs d'onde H : 405/535 I : 405 L : 535/671	Mesure de l'absorbance sur TP ou TCA durant la période de délai aux 3 longueurs d'onde 3 équations à 3 inconnues dont la résolution donne la valeur de chacune des interférences

# Enquêtes supp.: surcharge en hémoglobine

---

## 2017 à 2021

- ✓ 6 surcharges en Hb de **80 mg/dl à 500 mg/dl**
- ✓ Comparaison sérum natif (pool sérum congelé) / sérum surchargé
- ✓ Envoi de 1 ml de sérum, France métropolitaine , à tester dans les 3 jours
- ✓ Mesure une vingtaine de paramètres en biochimie sur les 2 sérums
  - Histogrammes, moyenne, sd et CV par technique & groupes de pairs
  - Commentaires laboratoires
- ✓ Surcharge en activités enzymatiques d'origine humaine : ASAT/ALAT/ GGT....
- ✓ Difficultés pour tester des constituants car instables ou concentration trop faible : bicarbonates, bilirubine, CRP, glucose, ammoniacque, ac lactique, troponine

# EEQ : Interprétation interférences hémolyse

---

Recommandations 2018 du groupe de travail pré-analytique (WG-PRE) de l'EFLM (Lippi et al ....) → 2 seuils

Calcul la variation **V** due à l'hémolyse en %

**ACL** Analytical change limite : Quelle variabilité analytique  $C_{va}$  → CV médian des techniques sur l'échantillon non hémolysé

**RCV** Reference Change Value : Utilisation du  $C_{vi}$  (table EFLM ou Ricos)

$|V| \leq \text{ACL}$  → pas d'interférence

$\text{ACL} < |V| < \text{RCV}$  → Interférence sans impact clinique, résultat avec commentaire

$|V| \geq \text{RCV}$  → interférence cliniquement significative, ne pas rendre de résultats

## Proposition EFLM

Lippi G, Cadamuro J, von Meyer A, Simundic AM. Practical recommendations for managing hemolyzed samples in clinical chemistry testing. Clin Chem Lab Med 2018

$$RCV = \sqrt{2} \times Z \times \sqrt{(CVa^2 + CVi^2)}$$

$$ACL = \sqrt{2} \times Z \times CVa = 2,77 \times CVa$$

Résultats non impactés

Résultats avec commentaires

Résultats supprimés

6 — Lippi et al.: Test results management in hemolyzed specimens

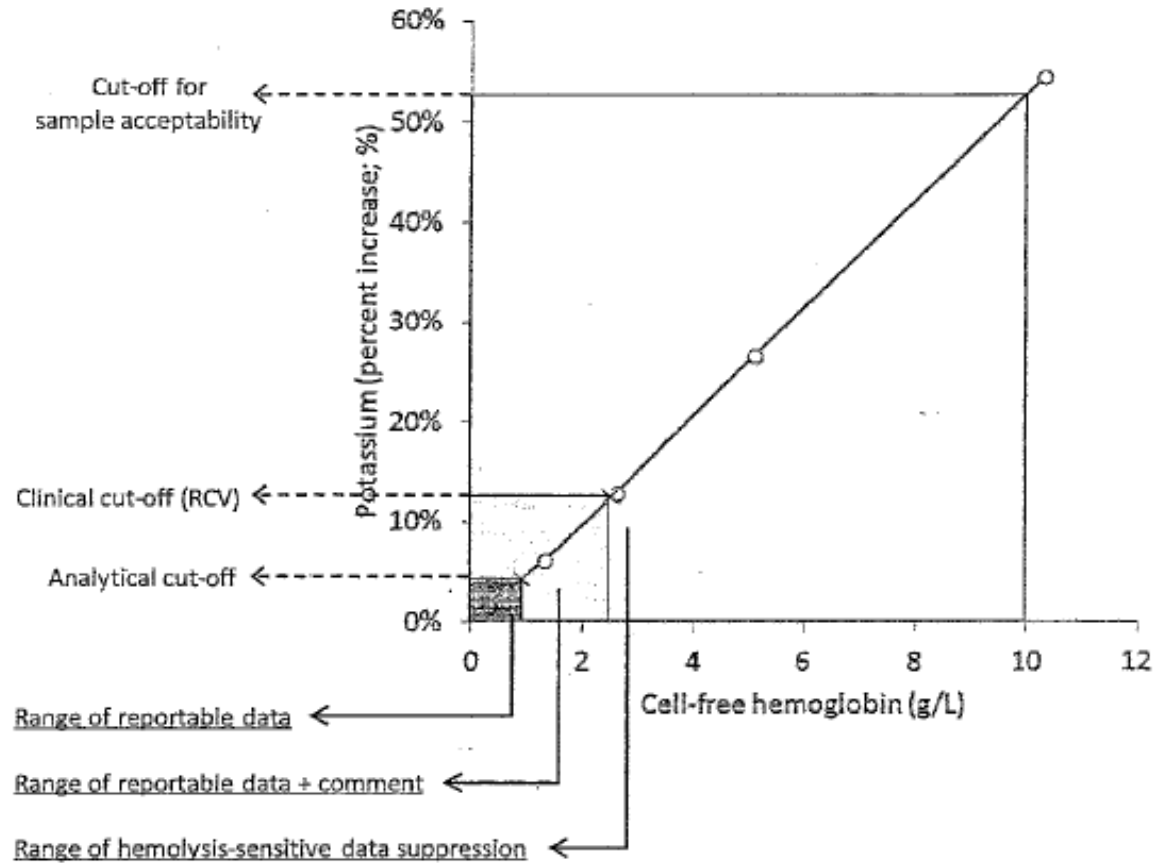


Figure 3: Interferogram, showing analytical and clinical significant decision limits. RCV, reference change value.

$CVa = CV \text{ analytique} - CVi = \text{variation intra-individuelle}$

# Synthèse des 6 enquêtes « hémolyse »

---

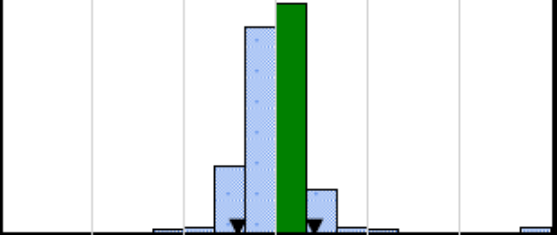
- Concentration d'Hb testée : **80 – 220 – 280 – 330 -370 – 500 mg/dl**
- Systèmes testés : Architect/Alinity, AU sytem, Vitros, Cobas, Integra, Advia/Atellica, Dimension, Vista → 550 à 600 réponses
- **Analyses non impactées** : acide urique, albumine, calcium, ferritine, HDL-Chol., pré-albumine, Transferrine, TSH, urée.
- **Analyses peu impactées** : créatinine, ALAT, cholestérol, triglycérides
- **Analyses systématiquement impactées** (Apport) : ASAT, K, LDH
- **Impact variable selon la technique** : CK, Fer, GGT, Lipase, PAL, Mg, Protéines
- *NB : Phosphates : interprétation difficile, taux trop élevé.*

Indice HB 21BI98 = 2.4 mg /dl (non Hémolysé)  
 Indice HB 21BI99 = 366 mg/dl

Toutes techniques :  
 CV et histogramme identiques

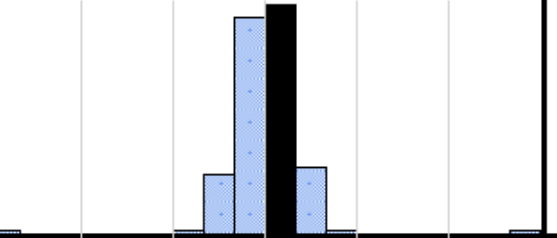
### 21BI98 / Calcium (mmol/L)

**Limites acceptables à ± 3,8 % (Ricos minimal)**  
 Statistiques robustes (algorithme A - norme ISO 13528:2015)

Groupes techniques/pairs	Codage	Histogramme	n	Cible	CV	E/M%	Limites
ENSEMBLE DES RESULTATS	E		559	2,272	2,4		2,186-2,358
			Note : TB zscore 0,1 Biais 0,4%				

### 21BI99 / Calcium (mmol/L)

**Limites acceptables à ± 3,8 % (Ricos minimal)**  
 Statistiques robustes (algorithme A - norme ISO 13528:2015)

Groupes techniques/pairs	Codage	Histogramme	n	Cible	CV	E/M%	Limites
ENSEMBLE DES RESULTATS	E		543	2,277	2,4		

## 21BI98 / Protéines (g/L)

Limites acceptables à  $\pm 5,2\%$  (EFLM minimal)  
Statistiques robustes (algorithme A - norme ISO 13528:2015)

Groupes techniques/pairs	Codage	Histogramme	n	Cible	CV	E/M%	Limites
ENSEMBLE DES RESULTATS	A		564	65,20	2,1		61,81 - 68,59
				Note : TB	zscore -0,1		Biais -0,3%

## 21BI99 / Protéines (g/L)

Limites acceptables à  $\pm 5,2\%$  (EFLM minimal)  
Statistiques robustes (algorithme A - norme ISO 13528:2015)

Groupes techniques/pairs	Codage	Histogramme	n	Cible	CV	E/M%	Limites
ENSEMBLE DES RESULTATS	A		529	70,16	5,5		

Indice HB 21BI98 = 2.4 mg /dl (non Hémolysé)

Indice HB 21BI99 = 366 mg/dl

Toutes techniques :  
CV doublé et histogramme modifié



# Protéines totales

Différences de comportement ?

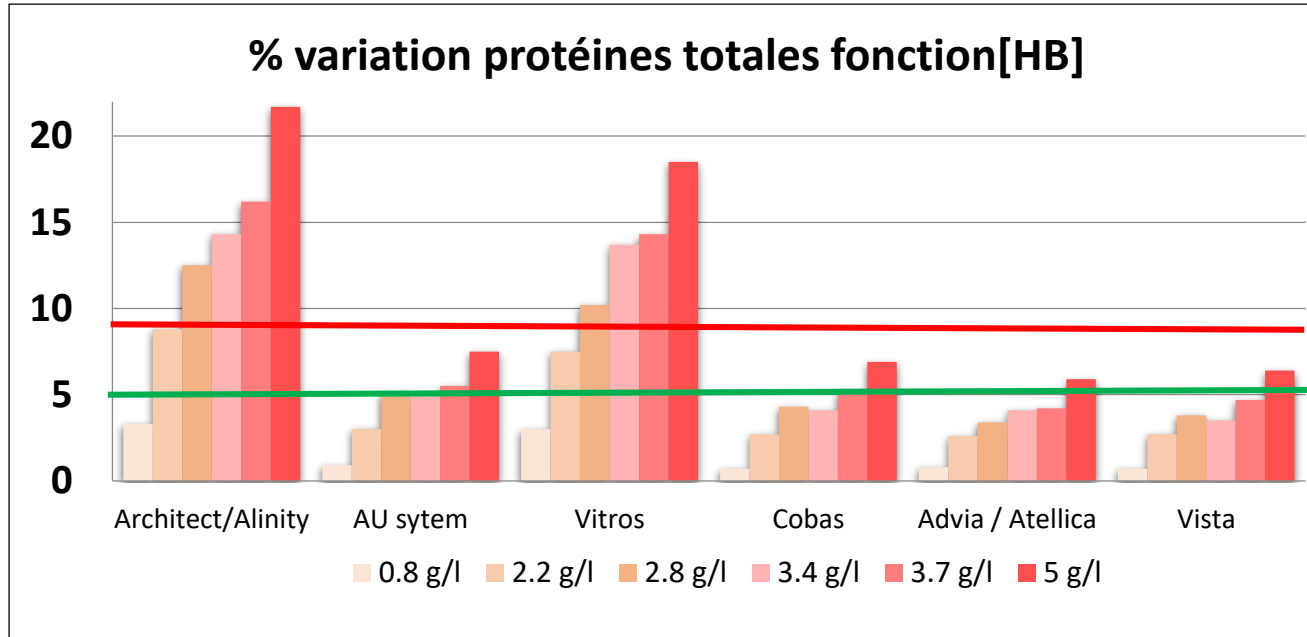
Réaction du biuret pour tous

**Monoréactif** : Abbott (pas de blanc échantillon)

**Biréactif** pour les autres

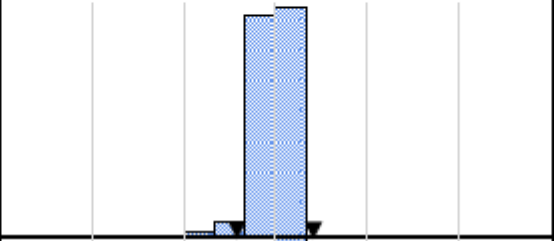
**Vitros** : réflectométrie

Impact de l'hémolyse pourrait être diminuée sur système Abbott par utilisation d'un biréactif.



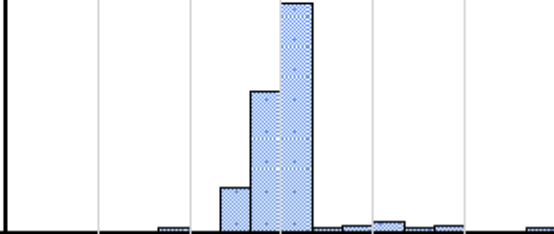
### 21BI98 / CK (U/L 37°C)

Limites acceptables à ± 11,0 % (EFLM optimal)  
Statistiques robustes (algorithme A - norme ISO 13528:2015)

Groupes techniques/pairs	Codage	Histogramme	n	Cible	CV	E/M%	Limites
ENSEMBLE DES RESULTATS	Z		530	185,2	3,1		164,8 - 205,6

### 21BI99 / CK (U/L 37°C)

Limites acceptables à ± 11,0 % (EFLM optimal)  
Statistiques robustes (algorithme A - norme ISO 13528:2015)

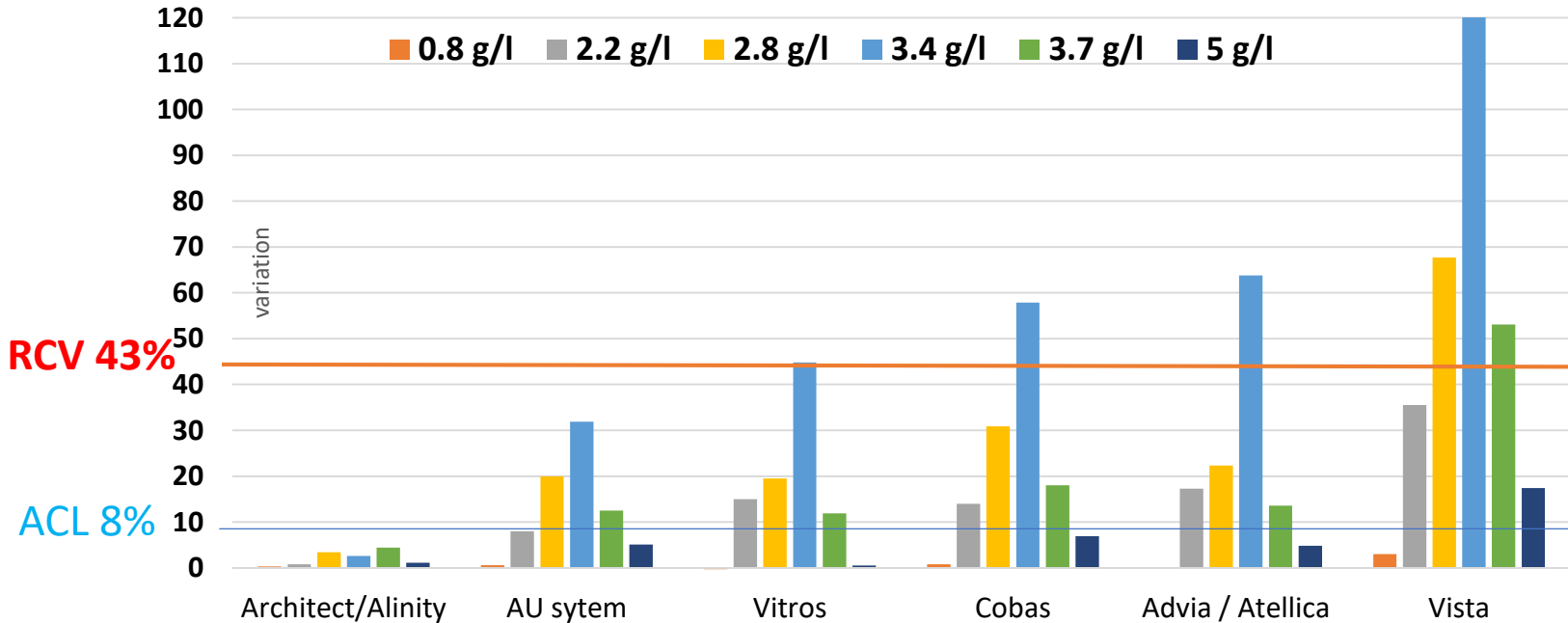
Groupes techniques/pairs	Codage	Histogramme	n	Cible	CV	E/M%	Limites
ENSEMBLE DES RESULTATS	Z		485	211,7	6,4		

Indice HB 21BI98 = 2.4 mg /dl (non Hémolysé)  
Indice HB 21BI99 = 366 mg/dl

Toutes techniques :  
CV doublé et histogramme modifié

# CK

% Variation CK selon systèmes analytiques / index d'hémolyse / concentration native de CK



- ✓ Méthodes IFCC
- ✓ Activation NAC
- ✓ 340 nm
- Inhibition incomplète l'action de l'adénylate kinase érythrocytaire ?

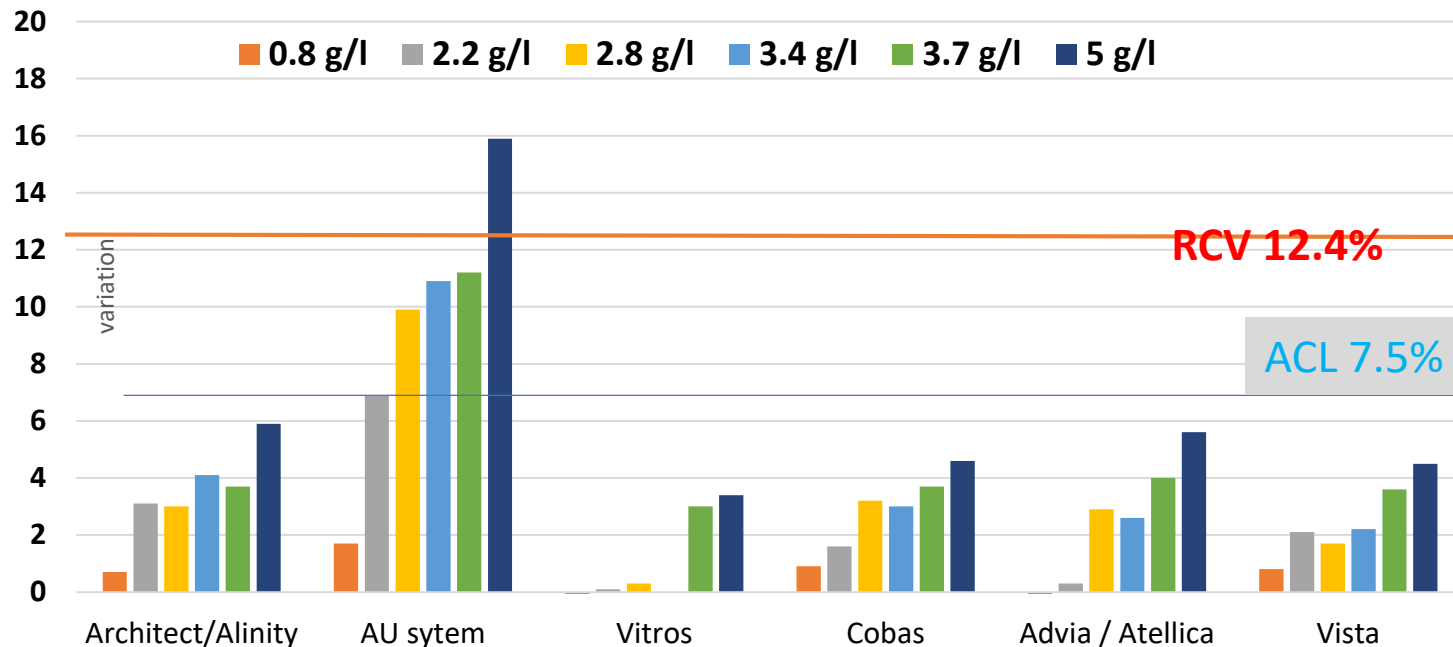
Impact hémolyse dépend de la **concentration** de l'analyte.  
Ne pas supprimer abusivement des résultats pathologiques ?

Concentration de CK testée de 70 à 740 U/L

HB g/l	0.8 g/l	2.2 g/l	2.8 g/l	3.4 g/l	3.7 g/l	5 g/l
CK U/L	740	155	100	70	185	740

# Mg

% Variation MG selon systèmes analytiques / index d'hémolyse /



[Mg ]de 0, 80 à 0,90 mmol/l

Pas d'impact de la concentration

Interférence sur les systèmes AU Beckman

Méthode bleu de Xylidyl comme Roche Cobas ou Siemens Advia/Atellica

Longueurs d'ondes différentes ?

AU Beckman 520/800nm

Roche Cobas 505/600nm

Rapport de dilution différents ?

# Étude de l'hémolyse et des pratiques

Indice d'hémolyse = 350 mg/dL

ANNEXE 3 DU RAPPORT R03-HIL-ENR-19-01 Sérum 21BI98/21BI99

Interprétation de l'indice d'hémolyse par les laboratoires : commentaires rendus pour l'échantillon 21BI99

(Nombre de réponses en fonction des techniques)

		Commentaire attendu		Commentaire acceptable		Commentaire non attendu											
		Abbott Architect/Alinity		Beckman AU system		Ortho Clin D Vitros		Roche Cobas		Roche Integra		Siemens Advia/Atellica		Siemens Dimension		Siemens Vista	
Acide urique	Technique	NA		N8		3K		NG		NG		ME		SI		SI	
	Pas d'interférence	74 (90%)		32 (100%)		0		165 (99%)		10 (100%)		25 (60)		4 (80%)		12 (100%)	
	Surestimation du résultat	2 (3%)						1 (0,5%)				1 (2)					
	Sous-estimation du résultat	4 (5%)															
	Interférence sur le résultat	1 (1%)															
	Résultat non rendu	1 (1%)				10 (100%)		1 (0,5%)									
ALAT	Technique	SQ	NQ	N6		3K		S4	N4	S4	N4	SE	NE	NC	NC		
	Pas d'interférence	10 (100%)	73 (100%)	28 (93%)		4 (80%)		5 (6%)	12 (12%)	0 (0%)	1 (20%)	8 (57%)	23 (62%)				
	Surestimation du résultat							11 (14%)	13 (13%)	3 (38%)		1 (11%)	1 (3%)				
	Sous-estimation du résultat			2 (7%)				22 (27%)	23 (23%)	1 (12%)	2 (40%)						
	Interférence sur le résultat					1 (20%)		43 (53%)	51 (52%)	4 (50%)	2 (40%)	2 (22%)	13 (35%)				
	Résultat non rendu																
ASAT	Technique	SQ	NQ	N6		3K		S4	N4	S4	N4	SE	NE	NC	NC		
	Pas d'interférence	2 (22%)	4 (5%)					3 (3,5%)	1 (1%)				2 (6%)				
	Surestimation du résultat		26 (31%)	6 (19%)				23 (28%)	14 (15%)	3 (38%)							
	Sous-estimation du résultat			1 (3%)													
	Interférence sur le résultat		7 (9%)	6 (19%)				8 (9,5%)	15 (16%)	1 (12%)	2 (33%)						
	Résultat non rendu	7 (78%)	46 (55%)	19 (59%)		9 (100%)		49 (50%)	66 (69%)	4 (50%)	4 (67%)						

Hémolyse : Pas d'interférence significative jusqu'à un indice H de 90 (concentration approximative en hémoglobine : 56 µmol/L ou 90 mg/dL).

>50% de résultats non rendus (Idem sur GGT)

>30% des résultats rendus alors que l'ACL est dépassé

Pratiques hétérogènes.  
Respect des alertes des fournisseurs

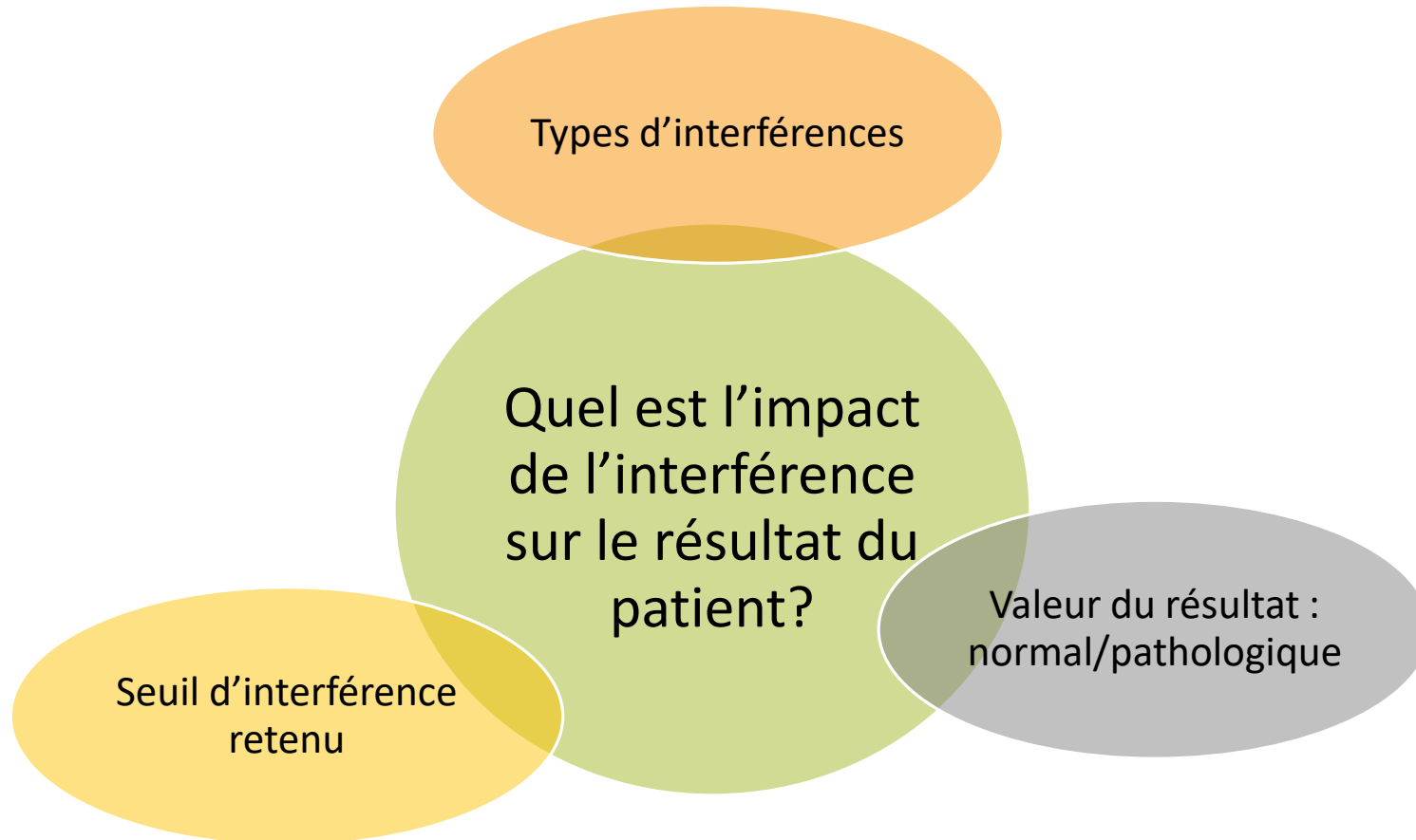
# Bilan de l'expérience EEQ PBOQ

---

- ✓ Programme plébiscité par les utilisateurs ( nombre de participants en augmentation)
- ✓ **Hétérogénéité** des techniques et des modalités de rendus
- ✓ Performances des techniques quantitatives >> qualitatives
- ✓ **Pas de standardisation** du mode de calcul des indices : résultat d'indice en échec sur les interférences mixtes → Vérification visuelle recommandée
- ✓ Comportement différent selon couple réactif /analyseur malgré des principes analytiques identiques → Les fournisseurs de réactifs pourraient améliorer les réactifs de chimie .....

# Que faire des résultats HIL?

---



# Le seuil d'interférence = seuil à partir duquel un résultat est considéré comme erroné

---

Définition de l'erreur totale acceptable



Essais pour définir la correspondance en indice HIL acceptable

## Plusieurs mode de calcul de l'erreur acceptable

- Analytique

- Fournisseurs : Variation de +/-10% (fournisseurs) : seuil arbitraire paramétré dans les automates.

Critère d'acceptabilité: Recouvrement  $\pm 10\%$  de la valeur initiale à une activité de  $\gamma$ -glutamyltransférase de 40 U/L (0.67  $\mu$ kat/L).

- Valtec : « Elles correspondent, pour chaque niveau de concentration défini, aux erreurs systématiques maximales tolérables. »  
→ = limite d'erreur de justesse systématique x 2 x niveau B, M, E.
- Précision analytique :  $ACL = \sqrt{2} \times Z \times CV_a$

Seuils imparfaits n'intégrant pas l'ensemble des erreurs



- **Analytique et variation biologique** : Pour qu'une modification chez un individu soit cliniquement significative elle doit être supérieure à la somme des variations liées à l'imprécision analytique et à la variation biologique.

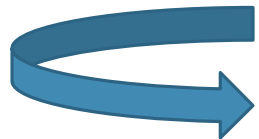
- Total Change Limit TCL =  $\sqrt{(2,77 CV_a)^2 + (0,5 CV_w)^2}$
- Erreur Totale acceptable =  $0,25\sqrt{(CV_a)^2 + (CV_g)^2} + 1,65 (0,5 CV_w)$
- RCV = Reference Change Value . RCV =  $\sqrt{2} \times Z \times \sqrt{(CV_a^2 + CV_w^2)}$  → Recommandations 2018 du groupe de travail pré-analytique (WG-PRE) de l'EFLM

Z = 1,96 pour un risque de 5%

$CV_a^2$  = variance de l'imprécision analytique --- > **A définir par le laboratoire?**

$CV_g^2$  = variance de l'imprécision biologique inter individuelle

$CV_w^2$  = variance de l'imprécision biologique intra individuelle



Difficilement applicable avec les données propres à chaque laboratoire



Se référer à la bibliographie

Routine Chemistry	
Test or Analyte	Acceptable Performance
Alanine aminotransferase	Target value $\pm$ 20%
Albumin	Target value $\pm$ 10%
Alkaline phosphatase	Target value $\pm$ 30%
Amylase	Target value $\pm$ 30%
Aspartate aminotransferase (AST)	Target value $\pm$ 20%
Bilirubin, total	Target value $\pm$ 0.4 mg/dL or $\pm$ 20% (greater)
Blood gas pO2	Target value $\pm$ 3 SD
Blood gas pCO2	Target value $\pm$ 5 mm Hg or $\pm$ 8% (greater)
Blood gas pH	Target value $\pm$ 0.04
Calcium, total	Target value $\pm$ 1.0 mg/dL
Chloride	Target value $\pm$ 5%
Cholesterol, total	Target value $\pm$ 10%
Cholesterol, high dens.	Target value $\pm$ 20%

<https://www.westgard.com/clia.htm>

Federal Register February 28, 1992;57(40):7002-186.

Tableau 3. Seuils décisionnels calculés (TCL) pour chaque analyte étudié.

Analyse	CVa	CVw	TCL (%)
Na	1,1	0,7	3,1
K	1,6	4,8	5,0
Chlorures	1,6	1,2	4,5
Urée	4	12,3	12,7
Créatinine	4,5	6	12,8
Glucose	2,4	4,5	7,0
Protéines	2,4	2,7	6,8
Calcium	1,6	1,9	4,5
ASAT	6	11,9	17,7
ALAT	6	18	18,9
LDH	6	8,6	17,2
CK	6	22,8	20,2
PAL	6	6,4	16,9
Lipase	6	23,1	20,2

TCL < variation fournisseur

TCL  $\approx$  variation fournisseur

TCL > variation fournisseur

Poupon C, Lefèvre G, Ngo-Franc,ois S, Alibeu C, Barbé F, BourbonneuxV, Cartier R, Morin C, Szymanowicz A,Vuillaume I. Interférence de l'hémolyse sur les examens de biologie médicale utilisés en biochimie d'urgence : étude multicentrique nationale. *Ann Biol Clin* 2015 ; 73(6) : 705-16 doi:10.1684/abc.2015.1090

Analyte	Cva (en %) ProBioQual	Cvi (en %) EFLM ou Ricos	ACL (en %)	RCV (en %)
Acide urique	2,0	8,6	5,5	24,5
Albumine	1,8	2,5	5,0	8,5
ALAT	3,7	10,1	10,3	29,8
ASAT	3,4	9,6	9,4	28,2
Amylase	2,6	6,6	7,2	19,7
Bilirubine totale	9,0	21,8	24,9	65,4
Calcium	1,7	1,8	4,7	6,9
Cholestérol	2,2	5,3	6,1	15,9

ProBioQual; Echantillons 21BI98/21BI99 RAPPORT DEFINITIF R03-HIL-ENR-019-01

Erreurs totales acceptables fixées



Définir l'indice d'HIL correspondant pour les analytes d'intérêt

# Définir le seuil HIL : cas de l'hémolyse et de l'interférence d'apport

Si Y (biais acceptable) est fixé → le laboratoire peut calculer IH

Tableau 2. Biais positifs en fonction de l'indice d'hémolyse (IH) et comparaison des IH du fournisseur et du laboratoire.

		Potassium		LDH		ASAT	
Niveau de mesurande		3,6 mmol/L	6,4 mmol/L	180 U/L	330 U/L	50 U/L	140 U/L
IHa selon la droite de régression (sensibilité)	ETa optimal	0	0	0	0	0	0
	ETa souhaitable	22 (0,99)	46 (0,94)	5 (1,00)	16 (0,99)	43 (0,96)	164 (0,90)
	ETa minimal	15	31	1,00	31 (0,98)	87 (0,93)	291 (0,87)
Biais positif en fonction de l'indice d'hémolyse B% = (a x IH + b) / cible CIQ	Indice d'hémolyse	15	8 %	8 %	8 %	23 %	8 %
	100	100	358 %	182 %	65 %		
	1000						
IHa du fournisseur		100	100	15	15	20	20
IHa du laboratoire		67	121	14	31	87	164

ASAT : aspartate aminotransférase, CIQ : cible interne de qualité, EEO : évaluation externe de la qualité, ETa : erreur totale acceptable, IH : indice d'hémolyse, IHa : indice d'hémolyse acceptable, LDH : lactate déshydrogénase.

Plus la valeur de l'analyte est faible plus l'impact de l'hémolyse est élevé

Pour être précis il faudrait 1 seuil par analyte et par niveau

Utiliser les bornes fournisseurs conduit à rejeter des résultats « acceptables »

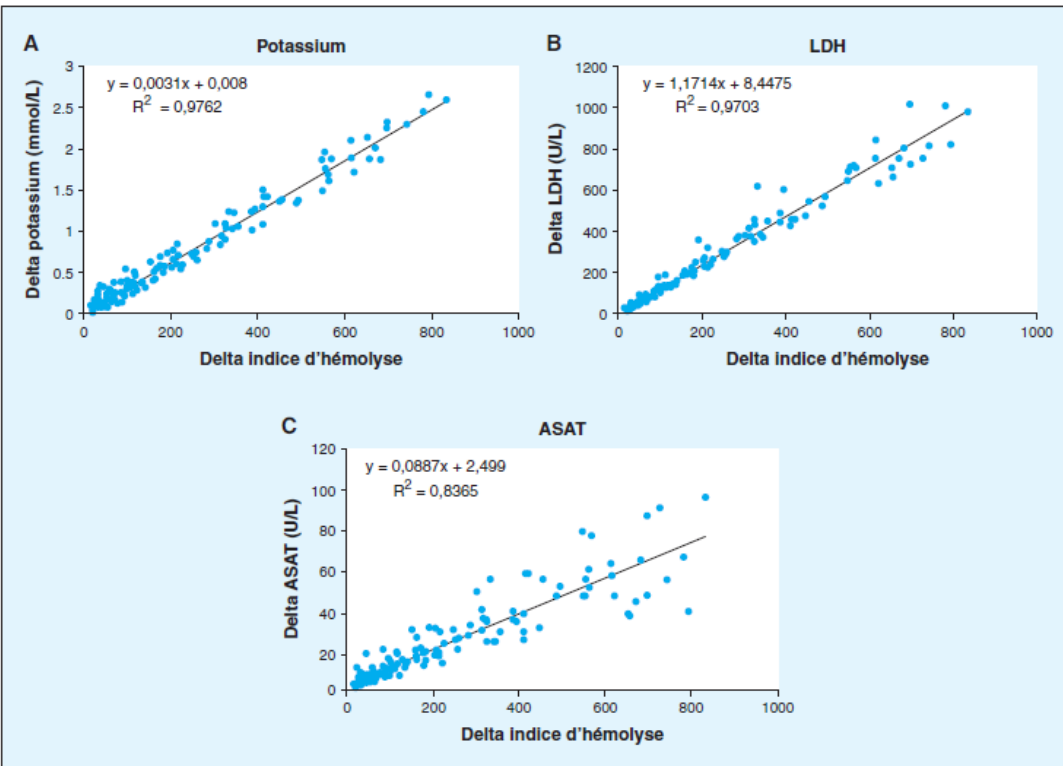


Figure 1. Évolution des concentrations plasmatiques en potassium (A), LDH (B) et ASAT (C) en fonction de l'indice d'hémolyse (delta : concentration du mesurande dans l'hémolysat dilué – concentration du mesurande dans le plasma pur).

Rousseau N, Pige R, Cohen R, Pecquet M. Quel indice d'hémolyse acceptable pour les dosages plasmatiques de potassium, LDH et ASAT ? *Ann Biol Clin* 2016 ; 74(3) : 323-8 doi:10.1684/abc.2016.1134

# Les seuils HIL sont fixés → que faire des résultats avec des alarmes HIL

---



Annuler le résultat

Commenter le résultat

Contourner l'interférence

# Annuler / Commenter le résultat

---

Les enquêtes PBQ et la bibliographie montrent que les pratiques sont hétérogènes et que certains résultats faux sont rendus commentés.

## Seuil HIL dépassés mais $< l'ETa$

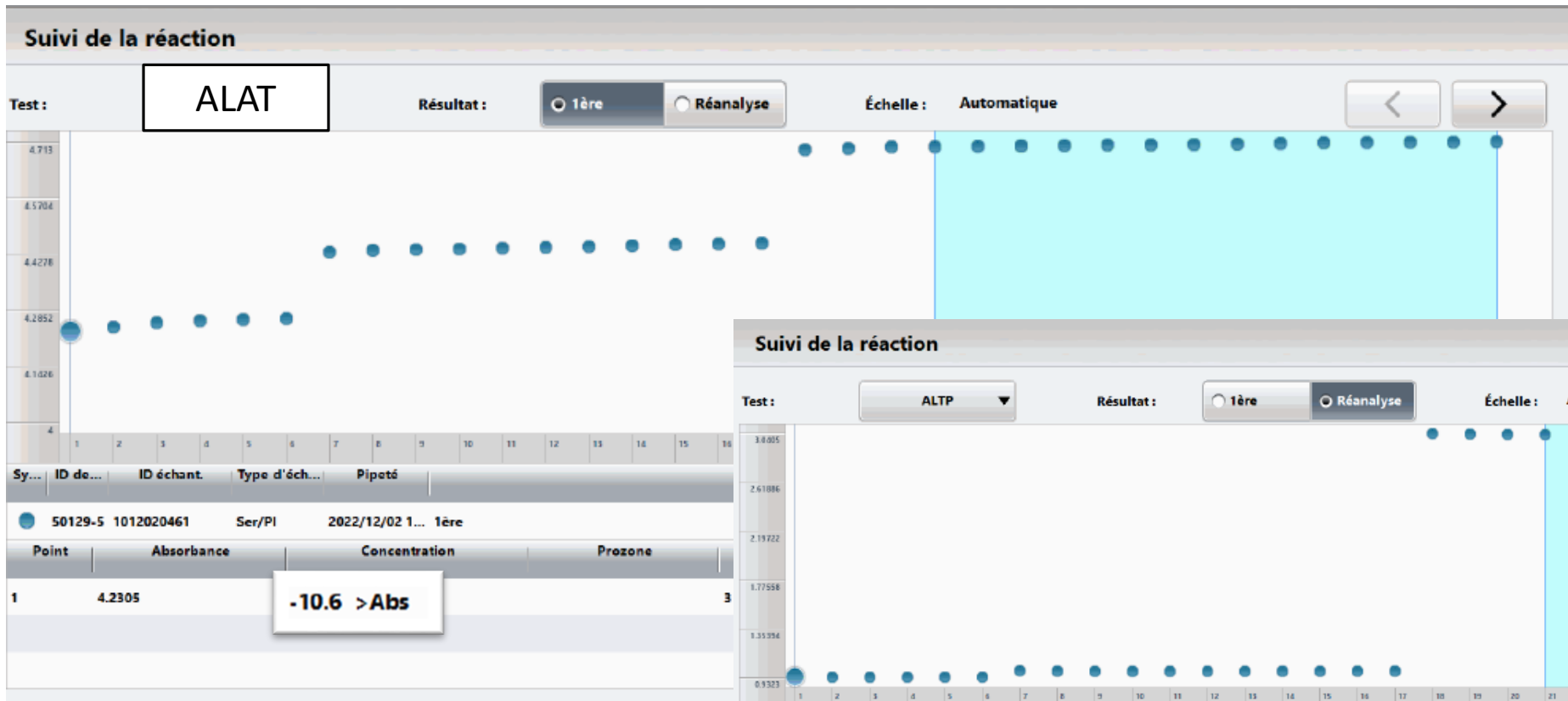
- Rendre le résultat
- Commenter le résultat en indiquant le risque de sur/sous-estimation

## Seuil HIL dépassés mais $> l'ETa$

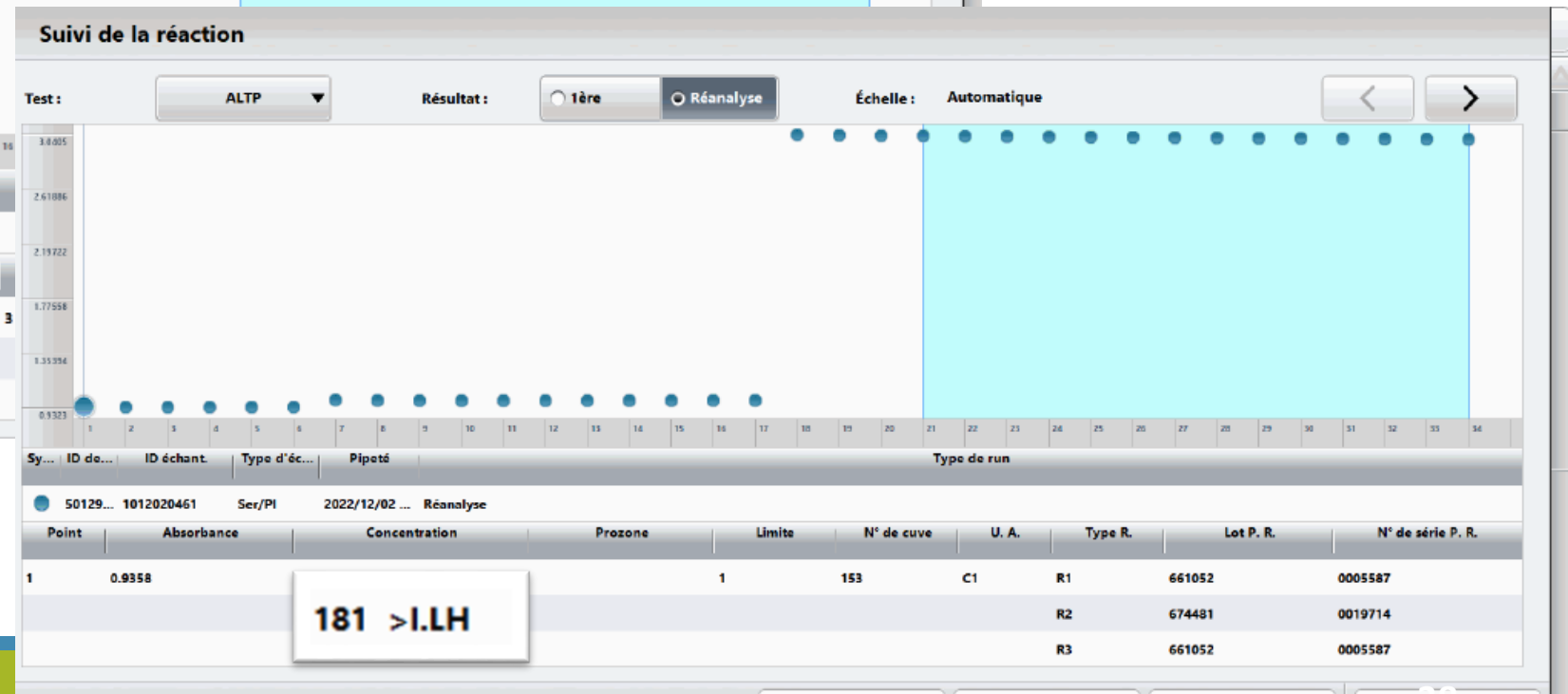
- Ne pas rendre le résultat
- Demander un nouveau prélèvement
- Essayer de contourner l'interférence

# Contourner l'interférence : Cas de la lactescence

L1000  
Ajouter limite de détection pour discuter de la validité de la dilution → rôle du biologiste

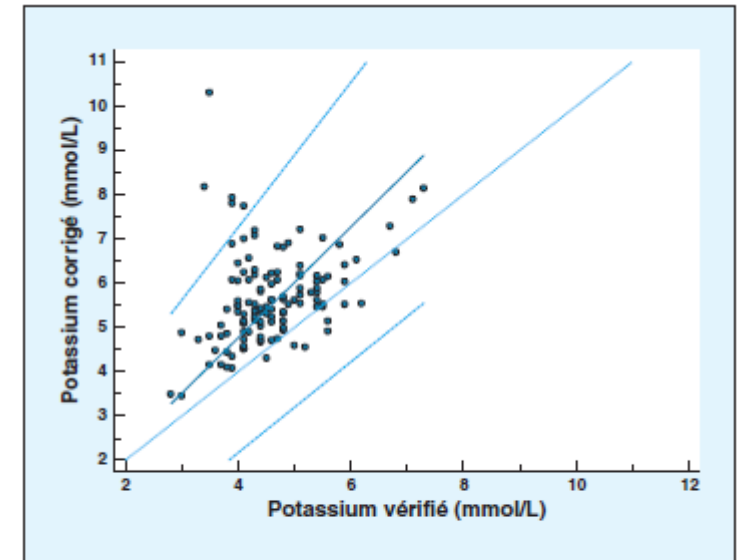


Dilution 1/3



# Contourner l'interférence par une formule de correction : cas de la l'hémolyse et du potassium

La correction de la kaliémie par l'indice d'hémolyse suivant l'algorithme proposé **ne permet pas de retrouver la « valeur vraie »** du potassium en absence d'hémolyse. Nos résultats vont dans le même sens que ceux de Mansour *et al.* [13]



**Figure 5.** Relation entre potassium vérifié (considéré comme potassium vrai) et potassium corrigé en fonction de l'indice d'hémolyse.

Poupon C, Lefèvre G, Ngo-François S, Alibeu C, Barbé F, Bourbonneux V, Cartier R, Morin C, Szymanowicz A, Vuillaume I. Interférence de l'hémolyse sur les examens de biologie médicale utilisés en biochimie d'urgence : étude multicentrique nationale. *Ann Biol Clin* 2015 ; 73(6) : 705-16 doi:10.1684/abc.2015.1090

# Contourner l'interférence : cas du sodium et de la lactescence

Sodium



Indice L >>



Potentiométrie indirecte erronée  
Pseudo hyponatrémie

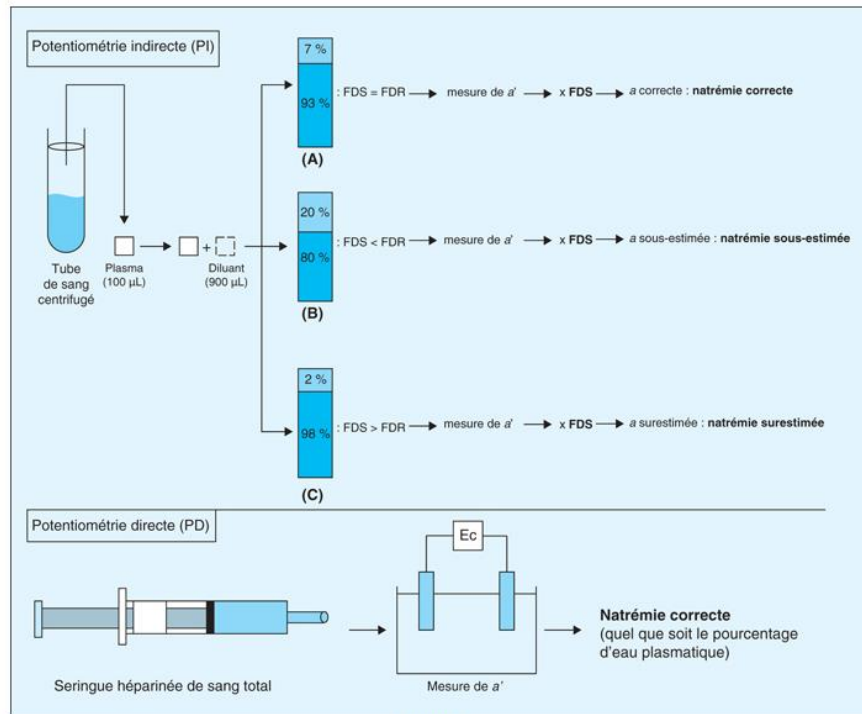


Figure 1

Mode opératoire de la potentiométrie indirecte (PI) et de la potentiométrie directe (PD). (A) : plasma « normal » (93 % d'eau plasmatique et 7 % de phase lipidoprotéique). (B) : plasma « anormal » avec pourcentage bas d'eau plasmatique (80 % d'eau plasmatique et 20 % de phase lipidoprotéique). (C) : plasma « anormal » avec pourcentage élevé d'eau plasmatique (98 % d'eau plasmatique et 2 % de phase lipidoprotéique). FDS : facteur de dilution standard. FDR : facteur de dilution réel de l'échantillon. E<sub>c</sub> : potentiel de la cellule électrochimique.

## Solutions

1. Potentiométrie directe (gaz du sang)
2. Calcul du sodium corrigé → plusieurs formules existent : <https://www.sfmu.org/> ; Urgences Médicales » de A. Ellrodt 5eme édition, Estem 2005;

$$Na_c = Na_{mesurée} + 0,2 \times Trigly (g/L)$$

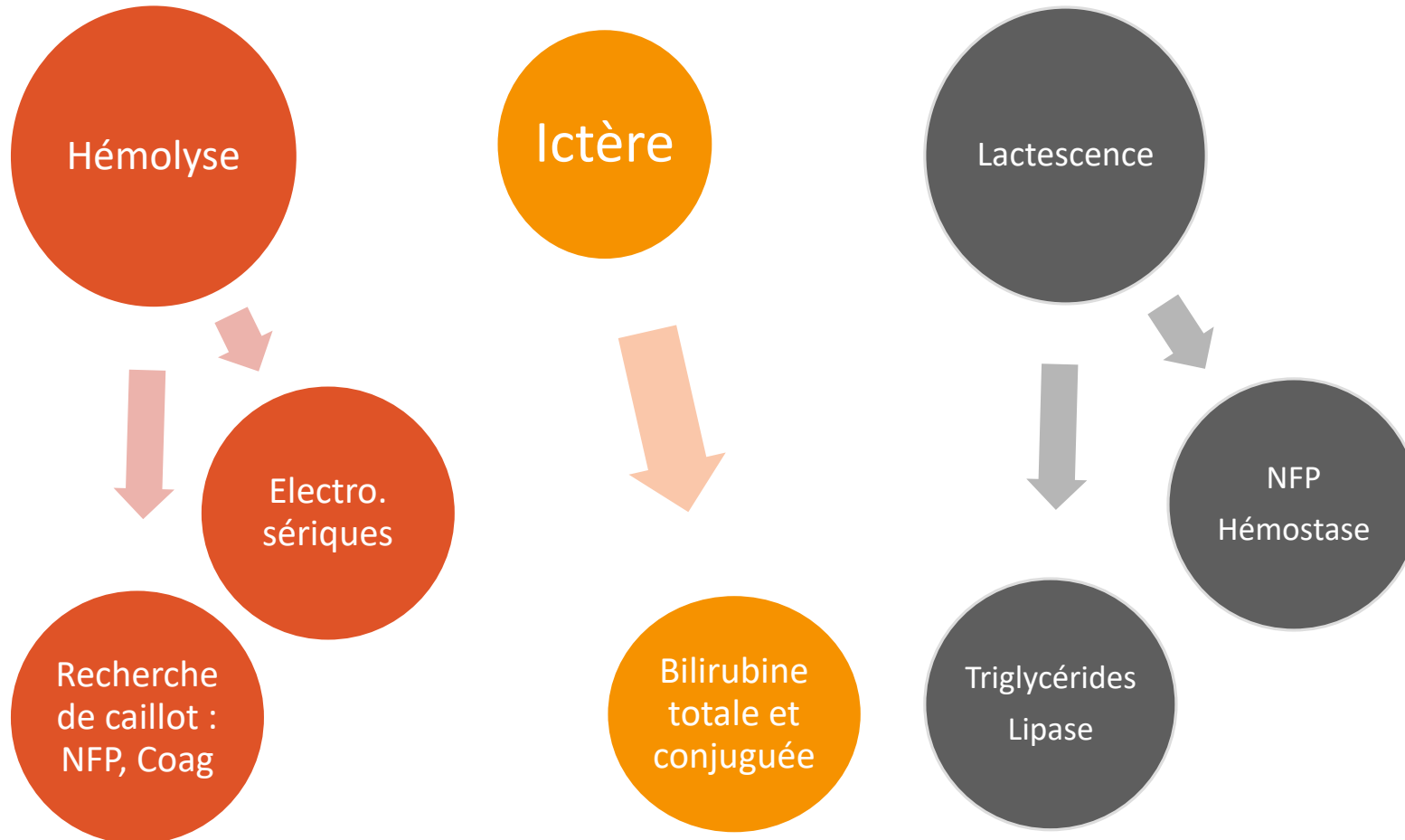
Aspect du plasma	u	Fortement hémolysé et lactescent	
Sodium	uc	125	mmol/l 136
Sodium corrigé	u	133	mmol/l
Sodium corrigé com	u	1 corrigé en fonction de la triglycédimie et de la prot	
Triglycérides	uc	47,30	mmol/l
Triglycérides (g/L)	u	41,86	g/l



# Ajouter des tests complémentaires

## Alerter les autres secteurs

---



Faut-il mesurer les indices HIL dès la phase pré-analytique?

# Conclusions et propositions

---

- ✓ Faire les HIL en **systematique**
- ✓ Ne pas se limiter aux notices fournisseurs
- ✓ Adapter les critères d'alerte HIL selon les **niveaux de concentration** : ne pas annuler un résultat pathologique abusivement.
- ✓ Utiliser les outils informatiques pour des déclenchements de test, des annulations, des réanalyses, ...
- ✓ Bloquer le dossier en validation selon la valeur des indices
- ✓ **Libellé des commentaires**
  - ✓ Proscrire « interférence sur le résultat » avec rendu du résultat
  - ✓ Si résultat rendu précisez la notion de sous/sur estimation
- ✓ Dans certains cas, il est possible de **contourner l'interférence** et de rendre un résultat pertinent



le rôle du biologiste

# Bibliographie

---

- Poupon C, Lefèvre G, Ngo-François S, Alibeu C, Barbé F, Bourbonneux V, Cartier R, Morin C, Szymanowicz A, Vuillaume I. Interférence de l'hémolyse sur les examens de biologie médicale utilisés en biochimie d'urgence : étude multicentrique nationale. *Ann Biol Clin* 2015 ; 73(6) : 705-16 doi:10.1684/abc.2015.1090
- Rousseau N, Pige R, Cohen R, Pecquet M. Quel indice d'hémolyse acceptable pour les dosages plasmatiques de potassium, LDH et ASAT ? *Ann Biol Clin* 2016 ; 74(3) : 323-8 doi:10.1684/abc.2016.1134
- ProBioQual : Échantillons 21BI98/21BI99, RAPPORT DEFINITIF 22/12/2021; R03-HIL-ENR-019-01
- Uçar et al.: Interferograms plotted with RCV to manage hemolysis; *J Med Biochem* 41: 53 –61, 2022
- Zelmat MS. Potentiométries directe et indirecte : différences précisées à travers un cas de maladie de Waldenström. *Ann Biol Clin* 2015 ; 73(3) : 345-52 doi:10.1684/abc.2015.1046
- Farrell CJ, Carter AC. Serum indices: managing assay interference. *Ann Clin Biochem* 2016;53(5):527-538
- Local quality assurance of serum or plasma (HIL) indices - Lippi G ... Simundic AM – EFLM – WR-PRE – *Clin Biochem* 2018;54:112-118
- Call for more transparency in manufacturers declarations on serum indices – Von Meyer A ... Simundic AM - EFLM – WR-PRE – *Clin Chim Acta* 2018;484:328-332
- Gabaj NN, Miler M, Vrtaric A, Hemar M, Filipi P, Kocijancic M, Smolcic VQ, Celap I, Simundic AM. Precision, accuracy, cross reactivity and comparability of serum indices measurement on Abbott Architect c8000, Beckman Coulter AU5800 and Roche Cobas 6000 c501 clinical chemistry analyzers. *Clin Chem Lab Med* 2018



**MERCI de votre attention**