

# Validation de méthodes des dosages de 13 paramètres biochimiques (ACE, CA 19-9, amylase, lipase, sodium, potassium, chlorure, créatinine, glucose, protéines, albumine, LDH, triglycérides) dans un panel de liquides biologiques

*Analytical validation of 13 biochemistry parameters (CEA, CA 19-9, amylase, lipase, sodium, potassium, chloride, creatinine, glucose, protein, albumin, LDH, triglycerides) in body fluids*

Charlotte Oris<sup>1,2</sup>  
Lise Landrieaux<sup>1</sup>  
Marina Brailova<sup>1</sup>  
Laurence Roszyk<sup>1,2</sup>  
Isabelle Rozand<sup>1</sup>  
Vincent Sapin<sup>1,2</sup>  
Damien Bouvier<sup>1,2</sup>  
Michèle Colombier<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Service de biochimie et génétique moléculaire, CHU Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France

<sup>2</sup> Université Clermont Auvergne, Faculté de médecine, CNRS 6293, Inserm 1103, GReD, Clermont-Ferrand, France

**Résumé.** Les performances des dosages de 13 paramètres biochimiques (ACE, CA 19-9, amylase, lipase, sodium, potassium, chlorure, créatinine, glucose, protéines, albumine, LDH, triglycérides) ont été testées dans un panel de liquides biologiques autres que le sang et l'urine (liquides péritonéal, pleural, pancréatique. . .). Notre protocole, établi à partir d'une analyse de risques, a permis d'argumenter nos choix et de comparer les performances obtenues à celles des matrices sériques et plasmatiques déjà validées. Dans ce cadre, les coefficients de variation de précision obtenus dans les liquides sont comparables. L'évaluation de la justesse (méthodes des surcharges et des dilutions) démontre l'absence de biais, ce qui est concordant avec l'absence d'effet matrice. La linéarité étudiée par des tests de dilutions établit que les limites supérieures du domaine de mesure communiquées par le fournisseur sont applicables aux liquides. L'absence de contamination et la stabilité ont été confirmées. Tous les analytes sont stables 3 jours à température ambiante, 7 jours entre 2 et 8 °C et 6 mois à -20 °C à l'exception de la LDH et de la lipase. Pour la plupart des analytes, au moins une interférence (hémolyse, ictère, lactescence) a été retrouvée. Enfin, une étude bibliographique confrontée à l'expérience des prescripteurs, nous a conduits à définir des seuils décisionnels figurant à titre indicatif sur les comptes rendus. En conclusion, ces travaux nous ont permis de maîtriser les dosages des liquides en s'appuyant sur leur comparabilité à la matrice validée, d'adapter nos pratiques et d'être accrédités en portée B selon la norme NF EN ISO 15189.

**Mots clés :** liquide péritonéal, liquide pancréatique, liquide pleural, validation de méthodes

**Abstract.** The measurement performance of 13 biochemistry parameters (CEA, CA 19-9, amylase, lipase, sodium, potassium, chloride, creatinine, glucose, protein, albumin, LDH, triglycerides) was tested in a panel of biological fluids other than blood and urine (peritoneal, pleural, pancreatic fluids ...). Our protocol, based on a risk analysis, allowed us to justify our choices and compare the performance obtained with those of the serum or plasma matrix already validated. Thus, the coefficients of variation obtained in body fluids are comparable. The assessment of accuracy (spiking and dilution tests) shows the absence of bias, which is consistent with the absence of matrix effect. The linearity studied

Article reçu le 29 octobre 2019,  
accepté le 22 janvier 2020

**Correspondance :** C. Oris  
<coris@chu-clermontferrand.fr>

Pour citer cet article : Oris C, Landrieaux L, Brailova M, Roszyk L, Rozand I, Sapin V, Bouvier D, Colombier M. Validation de méthodes des dosages de 13 paramètres biochimiques (ACE, CA 19-9, amylase, lipase, sodium, potassium, chlorure, créatinine, glucose, protéines, albumine, LDH, triglycérides) dans un panel de liquides biologiques. *Ann Biol Clin* 2020 ; 78(1) : 93-107 doi:10.1684/abc.2020.1524

by dilution tests shows that the upper limits of the measurement interval communicated by the supplier are applicable to body fluids. The absence of contamination and stability have been also confirmed. All analytes are stable for 3 days at room temperature, 7 days between 2 and 8°C, and 6 months at -20°C; except LDH and lipase. For most analytes, at least one interference (hemolysis, icterus, lipemia) was found. Finally, a bibliographical study, confronted with the experience of prescribers, led us to define optimal thresholds to help interpret patients' results. In conclusion, this work has allowed us to validate analytical methods for body fluids testing after relying on their comparability to the blood matrix. We have also been able to adapt our practices and finally be accredited according to the standard NF IN ISO 15189.

**Key words:** peritoneal fluid, pancreatic fluid, pleural fluid, analytical validation

En l'état actuel de la législation française, l'accréditation des laboratoires de biologie médicale selon la norme NF EN ISO 15189 devra concerner 100 % de leur activité, et ce au 1<sup>er</sup> novembre 2020. Dans ce contexte, la plupart des dossiers de vérification de méthodes, pour les matrices classiques (plasma, sérum, urines), ont été finalisés ou le seront prochainement. La validation des examens de biochimie réalisés sur des matrices « rares » (autres liquides biologiques que le sang et l'urine) apparaît cependant comme une préoccupation majeure. En effet, ces matrices ne sont jamais testées dans les fiches techniques des fabricants (à l'exception du glucose ou des protéines dosées dans le liquide cébrospinal (LCS)) ; alors que l'étude de divers paramètres biochimiques (antigène carbohydre 19-9 (CA 19-9), antigène carcino-embryonnaire (ACE), amylase, lipase, protéines, lactate déshydrogénase (LDH), créatinine...) est fréquemment prescrite dans des liquides de drain et d'épanchement. Ces dosages ne présentent pas de marquage CE et ne peuvent faire l'objet d'une simple vérification de méthode (portée A). En octobre 2018, le Cofrac (Comité français d'accréditation) a d'ailleurs précisé la stratégie d'accréditation de ces matrices « rares » en préconisant de les caractériser en fonction des matrices déjà vérifiées au moyen d'une analyse de risques [1].

Dans ce contexte, ce travail consiste à évaluer les performances des dosages de 13 paramètres biochimiques (ACE, CA 19-9, amylase, lipase, sodium (Na<sup>+</sup>), potassium (K<sup>+</sup>), chlorure (Cl<sup>-</sup>), créatinine, glucose, protéines, albumine, LDH et triglycérides) dans un panel de liquides biologiques varié et représentatif des prescriptions (liquides d'ascite, péritonéal, pleural, pancréatique et cébrospinal).

## Matériels et méthodes

### Analyse de risques

Nous avons établi un protocole de travail en se basant sur une analyse de risques, selon la méthode des 5 M [2] et

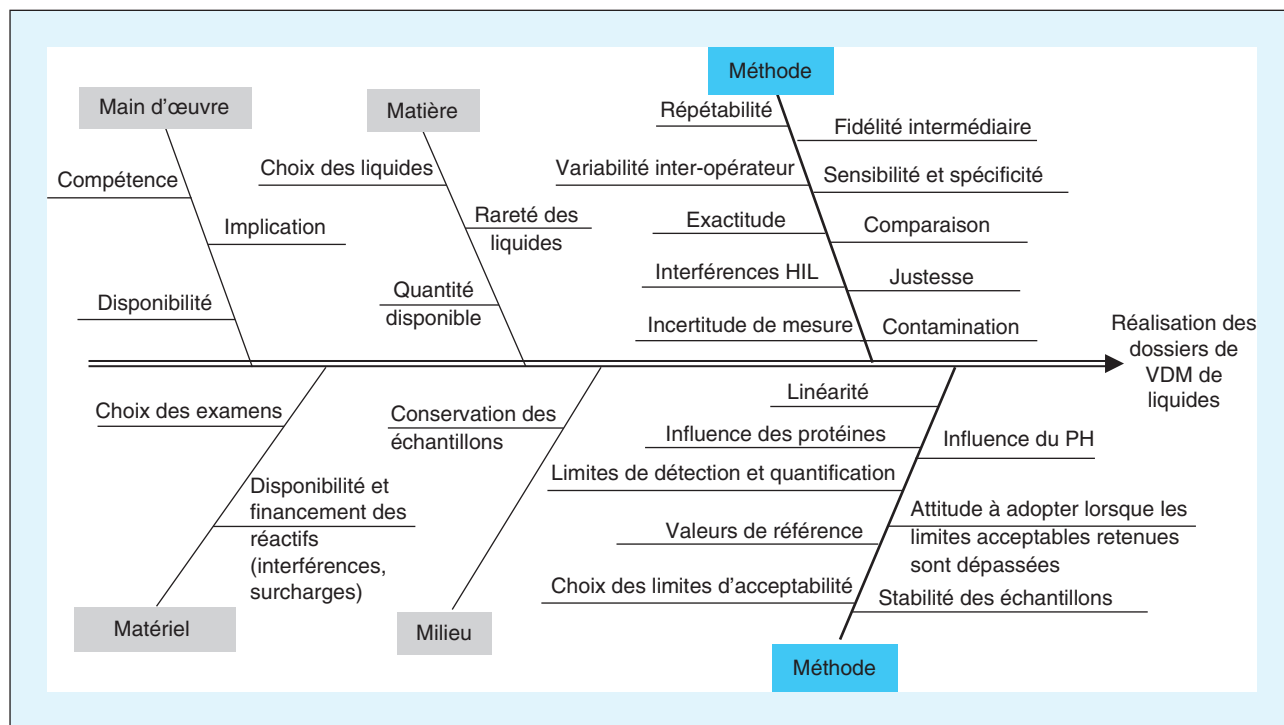
l'AMDEC [3]. Si l'ensemble des M (Milieu, Main d'œuvre, Matière, Matériel, Méthode) a été formalisé, étudié, coté, c'est sur la partie « méthode » que le service s'est focalisé (figure 1). La méthode a été déclinée pour chaque item du SH FORM 43 [4]. La variabilité inter-opérateurs n'a pas été testée car toutes les techniques sont automatisées. La validation de la sensibilité et de la spécificité analytique n'est pas requise car il s'agit de techniques quantitatives. L'incertitude de mesure et l'exactitude n'ont pas été évaluées compte tenu de l'absence de contrôles de qualité internes (CIQ) et externes (EEQ) dédiés aux liquides (à l'exception du chlore dans le LCS). La comparaison des automates en miroir n'a pas été réalisée au vu du caractère rare et précieux des échantillons.

### Échantillons et dosages

L'étude porte sur des matrices rares, des prélèvements invasifs et des échantillons précieux. Le service a choisi de cibler un panel de liquides variés pour généraliser les conclusions obtenues à l'ensemble des liquides. Ainsi, 79 liquides ont été inclus : 23 liquides d'ascite, 26 liquides péritonéaux, 19 liquides pleuraux, 8 liquides pancréatiques et 3 LCS.

Les échantillons biologiques, prélevés sur des tubes sans additif, ont été sélectionnés et inclus à partir de la routine du laboratoire de février à septembre 2019. Avant analyse, ils ont été centrifugés pendant 15 minutes à 3 200 tours/minute (vitesse recommandée au laboratoire pour les échantillons sanguins) et conservés jusqu'à 72 h à 4 °C.

Les dosages ont été réalisés sur les automates Dimension Vista® 1500 (Siemens) par chimiluminescence (CA 19-9 et ACE), potentiométrie indirecte (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> et Cl<sup>-</sup>), néphélométrie (albumine) et colorimétrie (amylase, lipase, LDH, triglycérides, créatinine, protéines et glucose) dans le service de biochimie et génétique moléculaire du CHU de Clermont-Ferrand. La vérification de la comparabilité des automates sur la matrice validée nous a conduits à réaliser notre étude de façon aléatoire sur l'un des automates de notre parc analytique.



**Figure 1.** Analyse de risques établie à partir du diagramme d'Ishikawa. HIL : hémolyse, ictère, lactescence ; VDM : validation de méthodes.

### Précision

La répétabilité a été évaluée pour au moins 3 liquides différents avec 10 dosages par liquide et par paramètre selon les préconisations recommandées par le Cofrac pour l'évaluation d'une matrice rare. Les CV ont été interprétés par rapport à ceux préconisés par le fournisseur et la Société française de biologie clinique (SFBC) [5] en fonction des niveaux de concentration les plus pertinents des matrices sériques et plasmatiques. Nos résultats ont aussi été évalués par rapport aux données bibliographiques sur liquides biologiques autres que le sang.

Ne disposant pas de CIQ liquides et au vu du caractère précieux des échantillons, la fidélité intermédiaire a été extrapolée à partir des CV (coefficient de variation) de répétabilité grâce à la formule suivante [5] :  $CV_{\text{reproductibilité}} = 1,33 \times CV_{\text{répétabilité}}$ . Les CV ont été interprétés par rapport à ceux préconisés par le fournisseur, la SFBC et C. Ricos pour les matrices sériques et plasmatiques.

### Justesse et exactitude

Pour chaque paramètre (hormis  $Na^+$  et  $Cl^-$ ), la justesse a été évaluée par des tests de surcharge en ajoutant dans 3 liquides différents des volumes de calibrateur de concentration connue en analyte à tester (5  $\mu L$  de calibrateur dans 95  $\mu L$  de liquide et 10  $\mu L$  de calibrateur dans 90  $\mu L$  de liquide). Pour le potassium, la surcharge a été réalisée à partir d'une urine de concentration élevée (calibrateur indis-

ponible) et les résultats ont été extrapolés au sodium et au chlore. Les pourcentages de récupération ont été calculés suivant la formule :  $[C_{\text{mesurée après surcharge}} - C_{\text{initiale}}] / [C_{\text{théorique de la surcharge}}] \times 100$  et considérés comme conformes entre 90 et 110 % [6].

Pour 6 paramètres (CA 19-9, ACE, amylase, lipase, LDH, albumine), la justesse a également été évaluée par des tests de dilution (dilutions : du  $1/2$  au  $1/20^e$ ) à partir du diluant préconisé par le fournisseur et ce pour 3 liquides. Les équations ont été réalisées entre les concentrations théoriques et celles mesurées.

Nos résultats ont aussi été évalués par rapport aux données bibliographiques sur liquides biologiques autres que le sang.

### Évaluation de l'effet de matrice

#### Effet de la concentration protéique

Une surcharge avec de l'albumine humaine en poudre a été réalisée de façon à obtenir 3 concentrations en protéines : 10 g/L, 20 g/L et 40 g/L. Les 3 liquides sélectionnés avaient chacun une concentration protéique < 5 g/L avant surcharge. Tous les paramètres ont été testés à l'exception des protéines totales et de l'albumine et des paramètres dosés par potentiométrie indirecte ( $Na^+$ ,  $K^+$  et  $Cl^-$ ). Les pourcentages de différence ont été évalués suivant la formule :  $(C_{\text{après surcharge albumine : 10, 20 ou 40 g/L}} - C_{\text{initiale}}) / (C_{\text{initiale}}) \times 100$  avec un seuil d'acceptabilité fixé à 10 % [6].

### Effet du pH

Une surcharge avec des volumes de NaOH (0,5 N) et HCl (12 N) (< 10 % du volume total) a été réalisée afin d'obtenir des pH acides (= 3) et basiques (= 10) et ce pour 4 liquides. Tous les paramètres ont été testés à l'exception des ions ( $\text{Na}^+$  et  $\text{Cl}^-$ ). Les pourcentages de différence ont été évalués suivant la formule :  $(C_{\text{pH} = 3 \text{ ou } 10} - C_{\text{pH initial}}) / (C_{\text{pH initial}}) * 100$  avec un seuil d'acceptabilité fixé à 10 % [6].

### Linéarité

Pour les paramètres pouvant présenter des valeurs pathologiques très élevées [7] (CA 19-9, ACE, amylase, lipase et LDH), les limites de linéarité communiquées par le fournisseur (sérum ou plasma) ont été vérifiées. Pour chaque paramètre, un liquide de concentration élevée (pancréatique pour l'ACE et péritonéal pour les autres) a été dosé aux dilutions, 1/2, 1/4, 1/5 et 1/10, pour établir une droite de régression entre valeurs théoriques et mesurées.

### Interférences

Les interférences de l'hémolyse, de l'ictère et de la lactescence ont été testées pour l'ensemble des paramètres compte tenu de l'aspect souvent hétérogène des liquides recrutés (hémorragique, lactescent...).

Pour l'hémolyse, une gamme de concentrations d'hémoglobine a été préparée [8] pour correspondre aux indices d'hémolyse H1 ( $H \leq 10 \text{ mg/dL}$ ), H3 ( $25 < H \leq 50 \text{ mg/dL}$ ), H4 ( $50 < H \leq 200 \text{ mg/dL}$ ), H5 ( $200 < H \leq 300 \text{ mg/dL}$ ), H6 ( $300 < H \leq 500 \text{ mg/dL}$ ) et H7 ( $500 < H \leq 1\,000 \text{ mg/dL}$ ) du Vista®. Les pourcentages de différence ont été évalués suivant la formule :  $(C_{\text{indice à tester : H3 à H7}} - C_{\text{indice H1}}) / (C_{\text{indice H1}}) * 100$  avec un seuil d'acceptabilité fixé à 10 % [6].

Pour l'ictère, une gamme de concentrations de bilirubine a été préparée [8] pour correspondre aux indices d'ictère I1 ( $I \leq 2 \text{ mg/dL}$ ), I2 ( $2 < I \leq 5 \text{ mg/dL}$ ), I3 ( $5 < I \leq 10 \text{ mg/dL}$ ), I5 ( $15 < I \leq 20 \text{ mg/dL}$ ) et I6 ( $20 < I \leq 40 \text{ mg/dL}$ ) du Vista®. Les pourcentages de différence ont été évalués suivant la formule :  $(C_{\text{indice à tester : I2 à I6}} - C_{\text{indice I1}}) / (C_{\text{indice I1}}) * 100$  avec un seuil d'acceptabilité fixé à 10 % [6].

Pour la lactescence, une gamme de concentrations d'Intralipid® a été préparée [8] pour correspondre aux indices de lactescence L1 ( $L \leq 50 \text{ mg/dL}$ ), L2 ( $50 < L \leq 100 \text{ mg/dL}$ ), L3 ( $100 < L \leq 200 \text{ mg/dL}$ ), L5 ( $400 < L \leq 600 \text{ mg/dL}$ ), L6 ( $600 < L \leq 800 \text{ mg/dL}$ ), L7 ( $800 < L \leq 1\,000 \text{ mg/dL}$ ) et L8 ( $L > 1\,000 \text{ mg/dL}$ ) du Vista®. Les pourcentages de différence ont été évalués suivant la formule :  $(C_{\text{indice à tester : L2 à L8}} - C_{\text{indice L1}}) / (C_{\text{indice L1}}) * 100$  avec un seuil d'acceptabilité fixé à 10 % [6].

Nos résultats ont aussi été évalués par rapport aux données bibliographiques sur liquides biologiques autres que le sang.

### Contamination

La contamination a été évaluée pour le CA 19-9 et la lipase, ces paramètres pouvant atteindre des taux très élevés dans les liquides issus des tumeurs pancréatiques [7]. Un liquide de concentration élevée a été analysé 3 fois consécutivement (H1, H2, H3, de moyenne mH) suivi d'un liquide de concentration basse également analysé 3 fois (B1, B2, B3). Les séquences (H1, H2, H3, B1, B2, B3) ont été répétées 3 fois afin d'établir la moyenne des B1 (mB1) et la moyenne des B3 (mB3). Le pourcentage de contamination entre les échantillons a été calculé selon la formule suivante :  $(mB1 - mB3) * 100 / (mH - mB3)$  [8]. Les résultats du CA 19-9 et de la lipase ont été respectivement extrapolés à l'ACE et l'amylase (mêmes principes de dosage).

### Stabilité

La stabilité a été évaluée pour chaque paramètre sur au moins 5 liquides après conservation de 1 à 3 jours à température ambiante, 1 à 7 jours entre 2 et 8 °C et 1 à 6 mois à -20 °C. Les pourcentages de différence ont été évalués suivant la formule :  $(C_T - C_0) / (C_0) * 100$  avec un seuil d'acceptabilité fixé à 10 % [6],  $C_T$  étant la concentration au temps étudié et  $C_0$  la concentration initiale.

### Critères d'interprétation

Il n'est pas possible d'établir des valeurs de référence sur des liquides biologiques uniquement prélevés dans des pathologies avérées (épanchement, tumeur...) et dont le prélèvement n'est pas sans risque. Pour cette raison, une étude bibliographique a été réalisée par type de liquide et par pathologie afin de proposer des seuils d'interprétation sur les comptes rendus de résultats après confrontation à l'expérience des prescripteurs.

Des valeurs de référence du chlore dans le LCS ont été établies après extraction de 2 778 concentrations mesurées sur Vista® durant l'année 2018. Les moyennes et écarts types tronqués ont été calculés pour exclure les valeurs les plus extrêmes considérées comme aberrantes.

## Résultats

### Echantillons

Le pH médian des 79 liquides était de 8 (minimum : 4,5 ; maximum : 9,5 ; 1<sup>er</sup> quartile : 7,5 ; 3<sup>e</sup> quartile : 8,5) et la concentration médiane en protéines de 22,2 g/L (minimum : 2,0 ; maximum : 50,5 ; 1<sup>er</sup> quartile : 11,5 ; 3<sup>e</sup> quartile : 40,4).

### Précision

Les CV de répétabilité (tableau 1) sont conformes aux données fournisseur et/ou SFBC pour le plasma ou le sérum ainsi qu'aux études expérimentales réalisées dans différents types de liquides, à l'exception de 3 :

**Tableau 1.** Étude de la répétabilité.

Analyte	Liquide	n	Moyenne	CV de répétabilité (%)	Sérum ou plasma		Autres liquides
					CV (%) Fournisseur	CV (%) SFBC	
CA 19-9 (kU/L)	Pancréatique	10	65,1	0,9	2,8	7,5	-
	Pleural	10	6,1	2,8	4,6	9,0	5,0 [10]
	Ascite	10	51,8	1,7	2,8	7,5	3,6 [9]
	Péritonéal	10	14,4	1,6	4,6	9,0	
ACE (µg/L)	Pancréatique	10	21,9	0,6	2,2	6,0	-
	Pleural	10	21,5	0,4	2,2	6,0	5,0 [10]
	Ascite	10	712,6	0,8	2,2	6,0	3,5 [9]
	Péritonéal	10	119,2	1,1	2,2	6,0	
Amylase (U/L)	Pancréatique	10	68,5	0,8	2,0	4,5	-
	Ascite	10	43,9	0,7	2,0	4,5	-
	Péritonéal	10	26,7	6,2 *	2,0	4,5	11,8 [6]
Lipase (U/L)	Pancréatique	10	165,1	2,1	2,0	4,5	-
	Ascite	10	98,7	0,5	3,0	4,5	1,2 [6]
	Péritonéal	10	434,8	0,8	2,0	3,8	
	Ascite	10	137	2,1	2,0	4,5	
Na+ (mmol/L)	Pleural	10	161,7	0,3	0,7	0,7	-
	Ascite	10	153,4	0,2	0,9	0,7	
	Péritonéal	10	157,7	0,3	0,7	0,7	
K+ (mmol/L)	Ascite	10	3,4	0,2	1,0	1,2	-
	Péritonéal	10	1,4	0,3	1,0	1,5	
	Pleural	10	4,2	0,4	1,0	1,2	
Cl- (mmol/L)	Pleural	10	148,2	0,3	1,0	1,2	-
	Ascite	10	120,3	0,2	1,0	1,2	
	Péritonéal	10	144,6	0,5	1,0	1,2	
	LCS	10	126,8	0,2	1,0	1,2	
Créatinine (µmol/L)	Pleural	10	57,0	2,5	2,9	4,5	3,8 [6]
	Ascite	10	56,1	1,6	2,9	4,5	24,8 [6]
	Péritonéal	10	23,1	6,0 *	2,9	4,5	
Glucose (mmol/L)	Pleural	10	8,5	1,1	2,0	1,8	-
	Ascite	10	7,6	0,6	2,0	1,8	1,1 [6]
	Pleural	10	17,3	1,6 *	1,0	1,2	-
	Pleural	10	0,3	5,0 †	-	-	-
Protéines (g/L)	Pleural	10	20,0	1,4	2,9	2,4	-
	Ascite	10	12,4	1,8	2,9	2,4	2,0 [6]
	Pleural	10	51,5	0,9	2,9	1,8	-
	Pleural	10	2,4	14,2 †	-	-	-
Albumine (g/L)	Pleural	10	17,1	1,2	3,6	4,5	-
	Ascite	10	8,3	2,0	3,6	4,5	3,7 [6]
	Pleural	10	19,2	3,3	3,6	4,5	-



**Tableau 1.** Étude de la répétabilité (*Suite*).

Analyte	Liquide	n	Moyenne	CV de répétabilité (%)	Sérum ou plasma		Autres liquides
					CV (%) Fournisseur	CV (%) SFBC	
LDH (U/L)	Pleural	10	277,0	1,1	1,9	4,5	2,6 [6]
	Péritonéal	10	409,5	0,5	1,9	4,5	13,3 [6]
	Ascite	10	84,3	2,4	2,3	4,5	0,7 [6]
	Pleural	10	2181,6	1,5	-	3,8	2,6 [6]
Triglycérides (mmol/L)	Pleural	10	0,4	1,3	3,0	4,2	-
	Péritonéal	10	29,4	0,7	2,0	3,6	
	Pleural	10	4,0	1,6	2,0	3,6	
	Ascite	10	0,4	1,7	3,0	4,2	

\* : Coefficient de variation (CV) non conforme aux recommandations du fournisseur et de la SFBC ; † : CV considéré comme acceptable à ce niveau de concentration.

- CV (6,2 %) de l'amylase pour le liquide péritonéal conforme à l'étude de Block *et al.* (11,8 %) pour ce type de liquide [6] ;
- CV (6,0 %) de la créatinine pour le liquide péritonéal conforme à l'étude de Block *et al.* (24,8 %) pour ce type de liquide [6] ;
- 1,6 % (glucose sur liquide pleural) versus 1,2 % pour la SFBC [5].

Les CV de fidélité intermédiaire calculés sont conformes aux données fournisseur, SFBC et Ricos ainsi qu'aux études expérimentales réalisées dans différents types de liquides autres que le sang [6, 9, 10].

## Justesse

Après surcharge, les pourcentages de récupération vont de 81 % à 125 % mais restent majoritairement compris entre 90 % et 110 % (tableau 2). On note que la récupération est meilleure pour la surcharge la plus concentrée (10 µL de calibrateur *versus* 5 µL). Après dilution, les équations obtenues entre valeurs théoriques et valeurs mesurées présentent des coefficients de corrélation proches de 1,0 et des pentes comprises entre 0,8 et 1,1 (figure 2).

Les pourcentages de récupération sont conformes aux épreuves de surcharges et de dilutions réalisées dans des liquides pleuraux [10], pancréatiques [7], péritonéaux/ascites [9] et divers [6, 11].

## Évaluation de l'effet de matrice

### Influence de la concentration en protéines

Les pourcentages des différences sont inférieurs au seuil d'acceptabilité fixé à +/- 10 % à l'exception de 4 paramètres (ACE, CA 19-9, amylase et lipase), mais pour lesquels

l'impact sur l'interprétation biologique est négligeable aux niveaux de concentrations testés (tableau 3).

### Influence du pH

Les pourcentages des différences sont inférieurs au seuil d'acceptabilité fixé à +/- 10 % à l'exception du CA 19-9 : 24 % à pH = 3 pour un liquide péritonéal et 19 % à pH = 10 pour un liquide pleural (tableau 4).

### Linéarité

Les équations obtenues présentent des coefficients de corrélation proches de 1,0 et des pentes voisines de 0,9 pour les 5 analytes testés (figure 3). Les résultats entre valeurs théoriques et valeurs mesurées sont comparables sur l'ensemble des domaines de mesures étudiés.

### Interférences

#### Hémolyse (figure 4A)

Les pourcentages des différences sont inférieurs à 10 % pour 6 analytes (ACE, Na<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>, glucose, créatinine et albumine). La concentration de LDH est surestimée (≈ 108 %) à partir de H3 (25 < H ≤ 50 mg/dL d'hémoglobine) et celle du K<sup>+</sup> (≈ 16 %) à partir de H4 (50 < H ≤ 200 mg/dL d'hémoglobine). Les concentrations des triglycérides (≈ 19 %) et des protéines (≈ 28 %) sont surestimées à partir de H6 (300 < H ≤ 500 mg/dL d'hémoglobine). Les concentrations de l'amylase (≈ - 19 %), de la lipase (≈ - 21 %) et du CA 19-9 (≈ - 13 %) sont sous-estimées à partir de H5 (200 < H ≤ 300 mg/dL d'hémoglobine).

#### Ictère (figure 4B)

À l'exception des triglycérides, de la créatinine et des protéines, les pourcentages des différences sont inférieurs à

**Tableau 2.** Épreuve des surcharges.

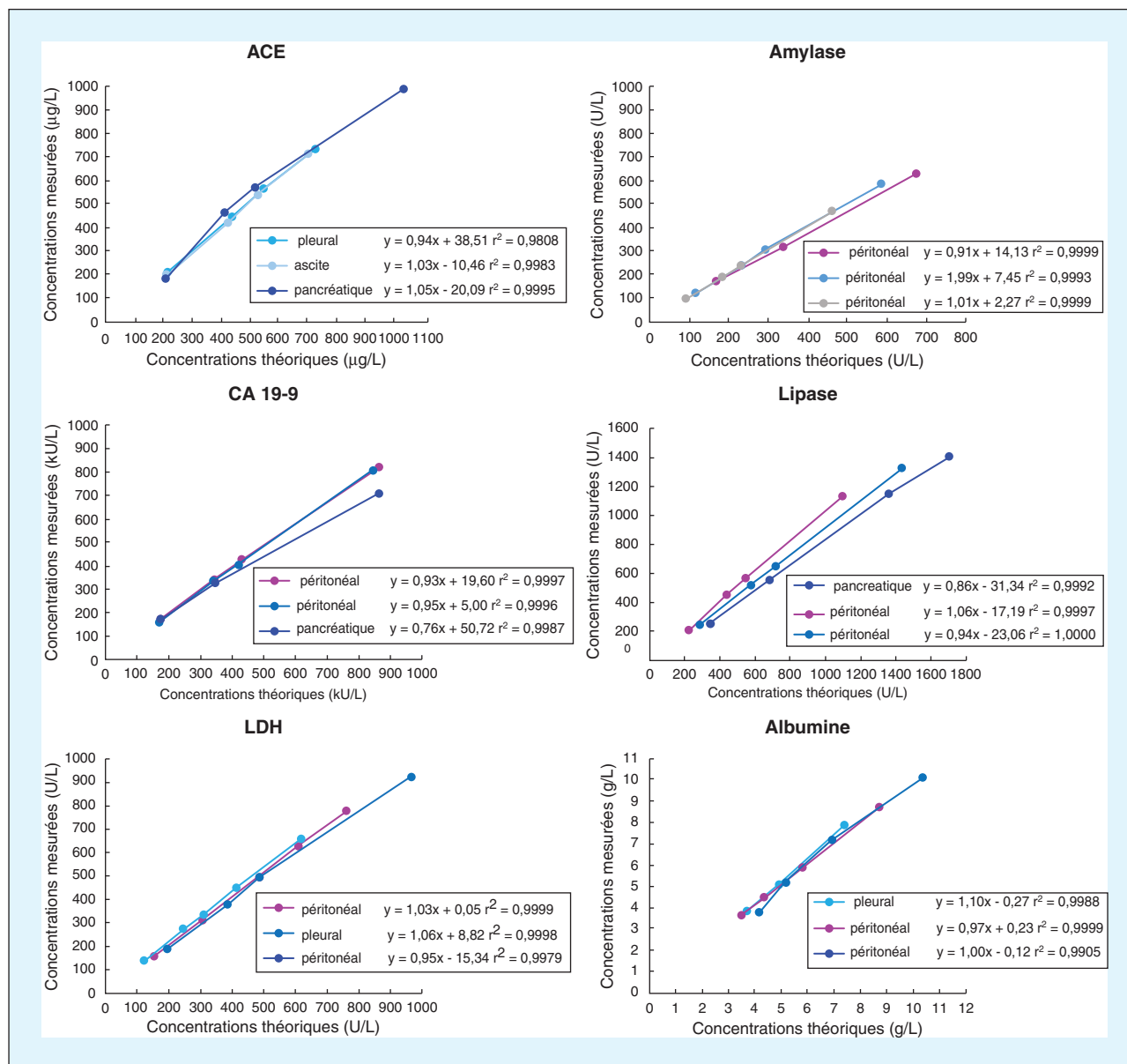
Analyte	Liquide	C initiale	C calibrateur ou urine	5 µL calibrateur ou urine		10 µL calibrateur ou urine	
				C après surcharge 1	% récupération	C après surcharge 2	% récupération
CA 19-9 (kU/L)	Ascite	2,6	1084,3	64,6	114 *	113,6	102
	Pleural	2,0		63,7	114 *	116,5	106
	Péritonéal	< 2,0		68,2	122 *	116,0	105
ACE (µg/L)	Ascite	0,6	1029,0	57,4	110	112,0	108
	Péritonéal	< 0,2		57,4	111 *	106,1	103
	Péritonéal	119,9		164,5	87 *	207,5	85 *
Amylase (U/L)	Pancréatique	8,0	724,0	44,0	99	87,0	109
	Péritonéal	5,0		41,0	95	84,0	109
	Péritonéal	15,0		60,0	124 *	96,0	112 *
Lipase (U/L)	Ascite	18,0	1415,0	92,0	105	141,0	87 *
	Péritonéal	17,7		80,5	89 *	150,4	94
	Péritonéal	168,0		240,0	102	283,0	81 *
K+ (mmol/L)	Ascite	4,92	29,9	6,28	91	7,69	93
	Pleural	3,91		5,38	98	6,79	96
	Pleural	4,03		5,51	99	6,86	95
Créatinine (µmol/L)	Péritonéal	65,2	1946,0	158,0	95	242,0	91
	Pleural	184,0		284,0	103	356,0	88 *
	Pleural	421,0		516,0	98	594,0	89 *
Glucose (mmol/L)	Péritonéal	0,2	29,1	1,7	100	3,0	97
	Pleural	0,3		1,8	108	3,1	96
	Pleural	0,1		1,6	104	2,9	96
Protéines (g/L)	Péritonéal	3,2	129,0	11,0	121 *	17,4	110
	Ascite	4,1		10,7	103	16,7	98
	Ascite	5,5		11,3	90	17,3	91
Albumine (g/L)	Ascite	2,2	112,0	8,0	103	12,7	94
	Pleural	28,0		33,3	95	37,8	87 *
	Ascite	2,2		8,2	106	13,2	98
LDH (U/L)	Ascite	23,0	1094,0	81	106	125,0	93
	Ascite	24,9		80,8	102	141,7	107
	Ascite	82,5		147,5	119 *	172,2	82 *
Triglycérides (mmol/L)	Pleural	0,7	12,0	1,4	125 *	2,0	109
	Péritonéal	0,6		1,2	102	1,9	107
	Ascite	0,3		1,0	125 *	1,6	106

C : concentration ; surcharge 1 : 5 µL calibrateur ou urine, 95 µL liquide ; surcharge 2 : 10 µL calibrateur ou urine, 90 µL liquide ; \* : % de récupération non compris entre 90 – 110 %.

10 %. La concentration des triglycérides est surestimée ( $\approx 19$  %) à partir de I3 ( $5 < I \leq 10$  mg/dL bilirubine). La concentration des protéines ( $\approx -24$  %) est sous-estimée à partir de I5 ( $15 < I \leq 20$  mg/dL bilirubine) et celle de la créatinine ( $\approx -16$  %) à partir de I6 ( $20 < I \leq 40$  mg/dL bilirubine).

#### Lactescence (figure 4C)

À l'exception du glucose et des protéines, les pourcentages des différences sont inférieurs à 10 %. La concentration du glucose est surestimée ( $\approx 13$  %) à partir de L3 ( $100 < L \leq 200$  mg/dL d'Intralipid®) et celle des protéines ( $\approx 21$  %) à partir de L8 ( $L > 1\,000$  mg/dL d'Intralipid®).



**Figure 2.** Épreuve des dilutions.

## Contamination

Un liquide pancréatique de concentration élevée en CA 19-9 (1 107 832 kU/L) n'a entraîné aucune contamination du liquide d'ascite testé (3,2 kU/L). Le pourcentage de contamination calculé entre ces 2 échantillons était de 0,000 %.

Un liquide pancréatique de concentration élevée en lipase (531 057 U/L) n'a entraîné aucune contamination du liquide pleural testé (16 U/L). Le pourcentage de contamination calculé entre ces 2 échantillons était de 0,000 %.

## Stabilité

Les pourcentages des différences sont inférieurs au seuil d'acceptabilité fixé à  $\pm 10$  % à l'exception de la LDH (-13,1 % : 7 jours entre 2-8 °C ; -33,9 % : 1 mois à -20 °C ; -40,6 % : 6 mois à -20 °C) et de la lipase (13,4 % : 6 mois à -20 °C).

## Critères d'interprétation

Les données de l'étude bibliographique obtenues en lien avec les cliniciens sont recensées dans le *tableau 5* et



**Tableau 3.** Évaluation de l'effet matrice : influence de la concentration en protéines.

Analyte	Liquide	C initiale	% différences après surcharges albumine		
			C 1	C 2	C 3
CA 19-9 (kU/L)	Ascite	4,3	12,0 †	-2,0	-2,0
	Ascite	5,2	-13,0 †	-21,0 †	-19,0 †
	Ascite	524,8	5,0	3,0	-1,0
ACE (µg/L)	Ascite	0,8	-	0,0	0,0
	Ascite	0,3	0,0	33,0 †	33,0 †
	Ascite	478,5	7,0	6,0	3,0
Amylase (U/L)	Ascite	37,0	-5,0	-3,0	-3,0
	Ascite	18,0	0,0	0,0	11,0 †
	Ascite	26,0	4,0	0,0	0,0
Lipase (U/L)	Ascite	323,0	0,0	-1,0	-1,0
	Ascite	81,0	-6,0	-22,0 †	-21,0 †
	Ascite	213,0	3,0	-2,0	-2,0
Créatinine (µmol/L)	Ascite	134,0	3,0	4,0	1,0
	Ascite	91,5	-7,0	-6,0	-5,0
	Ascite	110,0	1,0	-3,0	-5,0
Glucose (mmol/L)	Ascite	5,8	-4,0	-4,0	-6,0
	Ascite	8,6	-3,0	-5,0	-4,0
	Ascite	6,5	1,0	2,0	0,0
LDH (U/L)	Ascite	43,0	-9,0	-5,0	-7,0
	Ascite	65,0	-3,0	-3,0	-2,0
	Ascite	55,0	2,0	2,0	0,0
Triglycérides (mmol/L)	Ascite	0,4	-2,0	2,0	-2,0
	Ascite	11,1	-6,0	-5,0	-2,0
	Ascite	0,5	-4,0	-4,0	-4,0

C 1 : concentration en albumine après surcharge  $\approx 10$  g/L ; C 2 : concentration en albumine après surcharge  $\approx 20$  g/L ; C 3 : concentration en albumine après surcharge  $\approx 40$  g/L ; † : % différences (dépassant le seuil  $\pm 10$  %) acceptable à ce niveau bas de concentration ; C : concentration.

figurent à titre indicatif sur les comptes rendus de résultats. Pour les ions, les valeurs de référence du sang sont rendues à titre indicatif sur les comptes rendus car les concentrations dans les liquides sont concordantes aux valeurs sanguines [12, 13]. Pour l'amylase, les valeurs de référence du sang sont également communiquées aux prescripteurs. Pour la créatinine, le glucose et l'albumine, il est précisé que les concentrations sont à interpréter au regard des concentrations sanguines (voire urinaires pour la créatinine) des patients.

Les dosages des protéines (+/- albumine) et de la LDH permettent de différencier un transsudat d'un exsudat (tableau 5). Les transsudats sont dus à une obstruction mécanique conduisant au passage du liquide interstitiel dans des cavités normalement virtuelles. C'est le cas de l'ascite des cirrhotiques, des pleurésies cardiaques ou traumatiques. Les exsudats sont d'origine inflammatoire et

accompagnent des lésions locales évolutives : tuberculose, cancer, infections diverses. . . [14].

Les calculs des moyennes et écarts types tronqués ont défini des valeurs de référence du chlore dans le LCS comprises entre 123 et 139 mmol/L. L'extraction des 2 778 données a identifié 3 concentrations aberrantes.

## Discussion

Les CV de répétabilité et de fidélité intermédiaire sont comparables aux données fournisseur pour les matrices sériques et plasmatiques. Nos résultats sont également conformes à la littérature pour d'autres liquides biologiques que le sang (tableau 1). Ainsi, les CIQ des matrices validées par le fournisseur sont utilisés en routine pour le suivi des dosages de nos liquides (autres que le sang, l'urine et

**Tableau 4.** Évaluation de l'effet matrice : influence du pH.

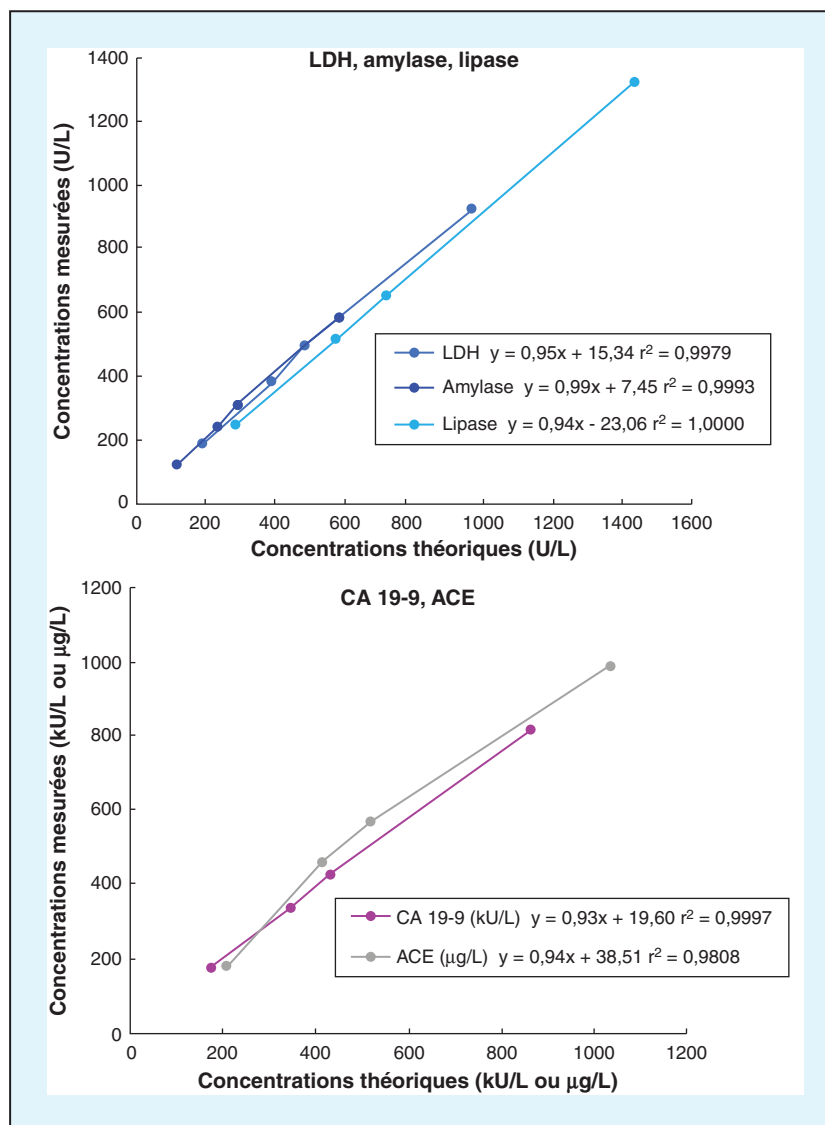
Analyte	Liquide	C initiale	% différences après modification pH	
			pH = 3	pH = 10
CA 19-9 (kU/L)	Péritonéal	60,3	-24,0 *	-4,0
	Pleural	349,1	-10,0	-19,0 *
	Péritonéal	3,0	-30,0 †	-27,0 †
	Pleural	< 2	0,0	0,0
ACE (µg/L)	Péritonéal	0,9	0,0	-11,0 †
	Péritonéal	1,4	0,0	-7,0
	Pleural	611,6	6,0	-10,0
	Pleural	2,4	4,0	-8,0
K+ (mmol/L)	Péritonéal	6,4	7,0	-6,0
	Péritonéal	4,6	7,0	-3,0
	Pleural	4,3	10,0	-9,0
	Ascite	3,8	7,0	-4,0
Créatinine (µmol/L)	Péritonéal	902,0	1,0	-6,0
	Péritonéal	44,4	5,0	3,0
	Ascite	104,0	0,0	0,0
	Pleural	71,8	5,0	-9,0
Glucose (mmol/L)	Péritonéal	1,6	1,0	-1,0
	Pleural	4,0	4,0	-9,0
	Ascite	5,1	-1,0	-8,0
	Pleural	8,5	2,0	-8,0
Triglycérides (mmol/L)	Péritonéal	1,0	-1,0	-5,0
	Pleural	1,7	-6,0	-6,0
	Péritonéal	3,1	7,0	-4,0
	Ascite	0,6	-2,0	-5,0
Protéines (g/L)	Péritonéal	33,9	0,0	-7,0
	Péritonéal	24,1	0,0	-3,0
	Péritonéal	12,2	2,0	3,0
	Pleural	54,7	0,0	-4,0
Albumine (g/L)	Péritonéal	12,4	0,0	-3,0
	Pleural	35,6	-2,0	-5,0
	Péritonéal	18,0	2,0	-7,0
	Pleural	23,9	-1,0	2,0

Le protocole utilisé est inadapté pour les enzymes. C : concentration ; \* : % différences dépassant le seuil +/-10 % ; † : % différences acceptable à ce niveau bas de concentration.

le LCS). Pour le LCS, nous disposons de CIQ spécifiques (à l'exception du Cl<sup>-</sup>).

Ne disposant pas de CIQ spécifiques pour les liquides, la justesse est évaluée par les méthodes des surcharges et des dilutions. Les résultats obtenus après surcharge sont globalement conformes (tableau 2). Les pourcentages de récupération (81 et 125 %) dépassant l'intervalle d'acceptabilité fixé (100 +/- 10 %) n'ont pas d'impact

sur l'interprétation biologique des résultats, d'autant que des intervalles d'acceptabilité plus larges (100 +/- 20 %) sont retrouvés dans la littérature [15]. Toutefois, les performances en termes de récupération sont meilleures après une surcharge de 10 µL de calibrateur (versus 5 µL), ce qui correspondrait à une concentration supérieure en albumine bovine du calibrateur. Cela confirme l'intérêt d'évaluer l'effet matrice lié à la fluctuation de la concentration pro-

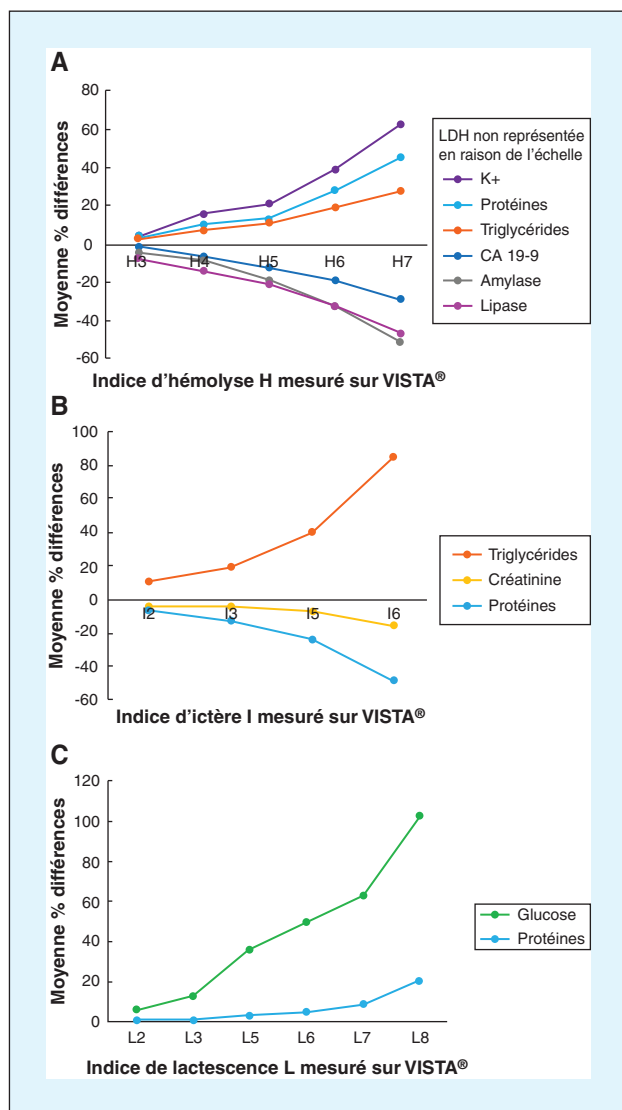


**Figure 3.** Étude de la linéarité. Pour chaque paramètre, un liquide de concentration élevée a été dosé aux dilutions, 1/2, 1/4, 1/5 et 1/10, pour établir une droite de régression entre valeurs théoriques (x) et mesurées (y). Limites hautes du domaine de mesure validées par le fournisseur pour des matrices sanguines : 1 000 U/L (LDH), 650 U/L (amylase), 1 500 U/L (lipase), 1 000 kU/L (CA 19-9) et 1 000 µg/L (ACE). Concentration initiale de chaque liquide ciblé : 1932,3 U/L (LDH), 1168,2 U/L (amylase), 2869,0 U/L (lipase), 1727,5 kU/L (CA 19-9) et 2071,0 µg/L (ACE).

téique dans les liquides. Les résultats obtenus après dilution sont également conformes (figure 2). Ces deux approches de la justesse confirment l'absence de biais de nos dosages dans des matrices différentes du sang et ce dans un panel de liquides variés (liquides pancréatiques, pleuraux, d'ascite, péritonéaux).

Le déroulement de la réaction antigène-anticorps est étroitement lié aux conditions de pH et de concentration en protéines. Les techniques de dosage sériques ou plasmatiques ne sont pas obligatoirement adaptées aux dosages dans d'autres matrices. Pour autant les surcharges réalisées pour modifier la concentration en protéines ont montré

l'absence d'effet matrice pour les liquides d'ascite testés (tableau 3). Ces résultats peuvent être extrapolés aux autres types de liquides (péritonéal, pleural et pancréatique) compte tenu de la comparabilité des performances testées en termes de répétabilité et de justesse. La littérature confirme également l'absence d'effet matrice pour des liquides pleuraux [10], pancréatiques [7], péritonéaux, d'ascites [9] et divers [6, 11]. L'évaluation de l'effet du pH montre uniquement des résultats supérieurs au seuil d'acceptabilité pour le CA 19-9, sur des pH acide (= 3,0) et basique (= 10,0) (tableau 4). Ces valeurs extrêmes de pH n'ont jamais été retrouvées sur les 79 liquides testés (pH



**Figure 4.** Études des interférences : hémolyse (A), ictère (B) et lactescence (C). H3 : 25 < H ≤ 50 mg/dL, H4 : 50 < H ≤ 200 mg/dL, H5 : 200 < H ≤ 300 mg/dL, H6 : 300 < H ≤ 500 mg/dL, H7 : 500 < H ≤ 1 000 mg/dL d'hémoglobine. I2 : 2 < I ≤ 5 mg/dL, I3 : 5 < I ≤ 10 mg/dL, I5 : 15 < I ≤ 20 mg/dL, I6 : 20 < I ≤ 40 mg/dL de bilirubine. L2 : 50 < L ≤ 100 mg/dL, L3 : 100 < L ≤ 200 mg/dL, L5 : 400 < L ≤ 600 mg/dL, L6 : 600 < L ≤ 800 mg/dL, L7 : 800 < L ≤ 1 000 mg/dL, L8 : L > 1 000 mg/dL d'Intralipid®.

médian = 8, pH minimum = 4,5 et pH maximum = 9,5) et les pourcentages de récupération (76 % et 81 %) restent acceptables.

La linéarité étudiée sur les paramètres pouvant atteindre des concentrations élevées (CA 19-9, ACE, amylase, lipase et LDH) a été vérifiée sur liquide péritonéal ou pancréatique (figure 3). La limite supérieure du domaine de mesure communiquée par le fournisseur est applicable pour l'ensemble des liquides, en accord avec les données déjà publiées [6, 9].

L'influence de l'hémolyse a été mise en évidence sur 7 examens (figure 4A) (tableau 6). L'interférence identifiée pour le potassium et la LDH correspond aux données fournisseur (sang) et bibliographiques [6], en cohérence avec leurs concentrations intra-érythrocytaires. Pour l'amylase et le CA 19-9, l'interférence est retrouvée dans notre panel de liquides à partir de H5 (200 < H ≤ 300 mg/dL d'hémoglobine) versus H7 (500 < H ≤ 1 000 mg/dL d'hémoglobine) dans le sang (données fournisseur). Pour l'amylase, ce résultat est en accord avec Block *et al.* [6] (tableau 6). Les données fournisseur (sang) ne mentionnent pas d'interférence pour la lipase, les triglycérides et les protéines contrairement à notre étude (tableau 6). Dans la littérature, l'interférence est également retrouvée à partir de 400 mg/dL pour les protéines (tableau 6). La pertinence de ces données pour les protéines peut être discutée au vu de la surestimation attendue par l'apport d'hémoglobine ; une vérification dans le sang serait nécessaire [16]. Cependant, dans les liquides le taux de protéines totales fluctuant de 2,0 à 50,5 g/L, l'impact de l'hémolyse serait plus important que dans le sang. Il nous paraît important de signaler cette surestimation. L'influence de l'ictère a été mise en évidence sur les dosages des triglycérides, des protéines totales et de la créatinine, conformément aux données fournisseur (sang) (figure 4B). Ces 3 paramètres, prescrits dans des liquides précieux, ont une forte pertinence diagnostique. Dans ce contexte, les résultats sont rendus au clinicien avec un commentaire indiquant le sens de l'interférence (sous-estimation : créatinine et protéines totales, surestimation : triglycérides). L'influence de la lactescence a été identifiée sur les dosages du glucose et des protéines totales comme indiqué par le fournisseur (sang) (figure 4C). Dans l'étude de Block *et al.* [6], le dosage du glucose n'est pas impacté par la lactescence, ce qui paraît surprenant. Les résultats sont rendus au clinicien avec un commentaire indiquant le sens de l'interférence (surestimation).

L'absence de contamination inter-échantillons a pu être confirmée pour l'ensemble des analytes, conformément à notre analyse de risques.

Les liquides d'épanchement (drains, sondes...) restant au lit du malade et l'étude de Block *et al.* [6] identifiant des différences de stabilité entre les matrices sang et liquides, des tests de stabilité ont été menés. Tous les analytes sont stables 3 jours à température ambiante, 7 jours entre 2 et 8 °C et 6 mois à -20 °C. À l'exception de la LDH qui n'est stable que 3 jours à température ambiante ou réfrigérée comme décrit pour le sang dans le WHO [17] et de la lipase qui présente une stabilité réduite à partir de 6 mois à -20 °C.

**Tableau 5.** Critères d'interprétation des paramètres biochimiques dans les liquides.

Analyte	Liquide pleural	Liquide péritonéal/liquide d'ascite	Liquide pancréatique
CA 19-9 (kU/L)	< 20 : en faveur d'un syndrome bénin [10]	< 72 : en faveur d'un syndrome bénin [9]	> 50 000 : évocateur de cystadénome mucineux [18, 19] < 37 : évocateur de cystadénome séreux [19, 20]
ACE (µg/L)	< 3,5 : en faveur d'un syndrome bénin [9, 10]		> 400 : évocateur de cystadénome mucineux [18, 19] < 5 : évocateur de cystadénomes séreux [19]
Amylase (U/L)	> borne haute des valeurs de référence du sang : en faveur d'une cause maligne ou plus rarement d'une fistule, d'un pseudokyste pancréatique ou d'une rupture œsophagienne [21]	> 5 fois la borne haute des valeurs de référence du sang : en faveur d'une ascite secondaire à une pancréatite [21] > 3 fois la borne haute des valeurs de référence du sang : en faveur d'une fistule pancréatique à la suite d'une pancréatoduodénectomie [22]	> 5 000 : en faveur d'un pseudokyste [18]
Lipase (U/L)	/	/	> 25 000 : en faveur d'un pseudokyste [18]
Créatinine (µmol/L)	Ratio (liquide/sang) > 1 : évoque un épanchement d'urine (urin thorax, uropéritoine...) [21, 23, 24]		/
Glucose (mmol/L)	< 3,4 (avec glycémie normale) : en faveur d'un épanchement para-pneumonique infecté, empyème, pleurésie rhumatoïde, tuberculose, tumeur, rupture œsophagienne [23, 25] < 1,6 : surtout évocatrice d'un empyème ou d'une pleurésie rhumatoïde [25]	La baisse du glucose par rapport au sang est évocatrice d'un contexte infectieux ou tumoral [24]	/
Protéines (g/L)	< 25 : transsudat > 35 : exsudat 25 - 35 : dosage de LDH conseillé [26]	< 25 : transsudat ≥ 25 : exsudat [27]	/
Albumine (g/L)	Gradient albumine (sang – liquide) > 12 : transsudat [21, 23]	Gradient albumine (sang – liquide) ≥ 11 : oriente vers une ascite cirrhotique [21, 27]	/
LDH (U/L)	Critères de Light : LDH > 200 ou ratio LDH liquide/sang > 0,6 ou ratio Protéines liquide/sang > 0,5 oui = exsudat, non = transsudat [25, 28]	Critères de Light révisés : LDH > 400 ratio LDH liquide/sang > 0,6 ratio Protéines liquide/sang > 0,5 2 critères sur 3 : exsudat, sinon transsudat [24, 29]	/
Triglycérides (mmol/L)	> 1,2 et aspect lactescent : en faveur d'un chylothorax < 0,6 : diagnostic peu probable [21, 23, 30]	> 1,2 et aspect lactescent : en faveur d'un ascite chyleux [21]	/

Une de nos problématiques majeures reste l'établissement de valeurs de référence adaptées aux différents types de liquides, conformément à l'exigence de la norme NF EN ISO 15189. Une étude rétrospective (année 2018) a été menée sur le chlore dans le LCS. Ce paramètre a été ciblé car le nombre de patients était significatif (n = 2 778), son dosage n'est pas sensible aux interférences analytiques

(hémolyse, lactescence et ictère), les valeurs de référence ne sont pas impactées par l'âge et le sexe et la concentration n'est diminuée que dans la méningite tuberculeuse (pathologie rare : aucun cas rapporté sur l'année ciblée). Depuis cette étude, les valeurs de référence du chlore dans le LCS (123-139 mmol/L) figurent sur le compte rendu de résultats. Pour les autres paramètres, une étude bibliographique

**Tableau 6.** Interprétation des données de l'hémolyse.

Analyte	Interférence Hémoglobine (mg/dL)		Bibliographie liquides	Rendu de résultats pour les liquides
	Sang (données Dimension Vista®)	Liquides (résultats obtenus)		
LDH	H3 : 25 < H ≤ 50 mg/dL	H3 : 25 < H ≤ 50 mg/dL	50 mg/dL (liquides divers) [6]	Résultat annulé
Potassium	H4 : 50 < H ≤ 200 mg/dL*	H4 : 50 < H ≤ 200 mg/dL	/	
Amylase	H7 : 500 < H ≤ 1 000 mg/dL	H5 : 200 < H ≤ 300 mg/dL	300 mg/dL (liquides divers) [6]	Résultat rendu avec commentaire "échantillon hémolysé, résultat sous-estimé"
CA 19-9	H7 : 500 < H ≤ 1 000 mg/dL	H5 : 200 < H ≤ 300 mg/dL	1 100 mg/dL (liquide pleural) [10] 1500 mg/dL (liquide péritonéal, ascite) [9]	
Lipase	pas d'interférence	H5 : 200 < H ≤ 300 mg/dL	Pas d'interférence (liquides divers) [6]	
Triglycérides	pas d'interférence	H6 : 300 < H ≤ 500 mg/dL	/	Résultat rendu avec commentaire "échantillon hémolysé, résultat surestimé"
Protéines	pas d'interférence	H6 : 300 < H ≤ 500 mg/dL	400 mg/dL (liquides divers) [6]	

\* Résultat rendu avec commentaire : « valeur surestimée d'environ 15 % en raison de l'hémolyse » (étude interne réalisée au laboratoire).

a été réalisée et confrontée à l'expérience de nos prescripteurs du CHU de Clermont-Ferrand afin de définir des seuils décisionnels. Pour 10 paramètres (ACE, CA 19-9, amylase, lipase, glucose, protéines, albumine, créatinine, LDH et triglycérides), des seuils issus d'une synthèse bibliographique ont été définis par type de liquide et figurent à titre indicatif sur le compte-rendu (*tableau 5*). L'interprétation de ces dosages dans les liquides doit être associée aux données cliniques et aux autres données biologiques (bactériologiques, cytologiques...) et reste du domaine des spécialistes (médecine digestive, pneumologie, réanimation, néphrologie...). Pour le dosage des ions dans les liquides pleuraux et péritonéaux, la majorité des prescripteurs contactés ne les interprètent pas, à l'exception de rares cas (repérage de fuites sodées chez le grand prématuré...) et remettent souvent en cause leur prescription. Cela va dans le sens de notre analyse bibliographique. À l'avenir ces examens dans les liquides pourront faire l'objet d'une juste prescription.

## Conclusion

Notre validation de méthodes s'est appuyée sur une analyse de risques reprenant l'ensemble des items du GTA 04. Les performances obtenues pour les paramètres dosés dans les différents liquides sont comparables à celles des matrices testées par le fournisseur. Ceci nous conforte dans l'utilisation des CIQ et EEQ des matrices sériques ou plasmatiques, pour le suivi des dosages des liquides. Au vu

des différences constatées par rapport aux données fournisseur (matrices validées) pour l'interférence de l'hémolyse, il nous paraît nécessaire de les vérifier sur le sang. Cette étude nous a permis de maîtriser les dosages réalisés dans les liquides en optimisant la gestion des interférences et en déterminant des valeurs de référence avec nos prescripteurs pour améliorer la prise en charge du patient. Les dosages ont été réalisés sur des automates en cours de renouvellement, les données ainsi obtenues nous permettront de disposer d'une base de travail pour les prochains automates. Les matrices sang et liquides étant comparables, notre démarche pourra s'appuyer sur une nouvelle analyse de risques et une étude des interférences. Cette étude n'étant pas exhaustive, il sera nécessaire de l'élargir à d'autres paramètres et pour certains de valider des items supplémentaires comme la limite de quantification de la thyroglobuline dans le liquide de rinçage des aiguilles de cytoponction.

**Liens d'intérêts :** les auteurs déclarent ne pas avoir de lien d'intérêts en rapport avec cet article.

## Références

1. Cofrac. *La newsletter de la section santé humaine du Cofrac. SH News #15*. Cofrac, 2018.
2. Anaes, Service évaluation en établissements de santé. *Méthodes et outils des démarches qualité pour les établissements de santé*. Anaes, 2000.
3. HAS. *Mettre en œuvre la gestion des risques associés aux soins en établissement de santé – Fiches 26 et 34*. HAS, 2012.



4. COFRAC. *SH Form 43 fiche type – Vérification (portée A)/Validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale révision : #01*. COFRAC, 2015.
5. Vassault A, Grafmeyer D, De Graeve J, Cohen R, Beaudonnet A, Bienvenu J. Quality specifications and allowable standards for validation of methods used in clinical biochemistry. *Ann Biol Clin (Paris)* 1999; 57: 685-95.
6. Block DR, Ouversen LJ, Wittwer CA, Saenger AK, Baumann NA. An approach to analytical validation and testing of body fluid assays for the automated clinical laboratory. *Clin Biochem* 2018; 58: 44-52.
7. Levy A, Popovici T, Bories P-N. Tumor markers in pancreatic cystic fluids for diagnosis of malignant cysts. *Int J Biol Markers* 2017; 32: 291-6.
8. Vaubourdolle M. Recommandations pour l'accréditation des laboratoires de biologie médicale. *Ann Biol Clin (Paris)* 2010; 68 (hors série no 1): 247-94.
9. Kaleta EJ, Tolan NV, Ness KA, O'Kane D, Algeciras-Schimmich A. CEA, AFP and CA 19-9 analysis in peritoneal fluid to differentiate causes of ascites formation. *Clin Biochem* 2013; 46: 814-8.
10. Hackbarth JS, Murata K, Reilly WM, Algeciras-Schimmich A. Performance of CEA and CA19-9 in identifying pleural effusions caused by specific malignancies. *Clin Biochem* 2010; 43: 1051-5.
11. Owen WE, Thatcher ML, Crabtree KJ, Greer RW, Strathmann FG, Straseski JA, *et al.* Body fluid matrix evaluation on a Roche cobas 8000 system. *Clin Biochem* 2015; 48: 911-4.
12. Nguyen-Khac E, Thevenot T, Capron D, Dharancy S, Paupart T, Thabut D, *et al.* Are ascitic electrolytes usable in cirrhotic patients? Correlation of sodium, potassium, chloride, urea, and creatinine concentrations in ascitic fluid and blood. *Eur J Intern Med* 2008; 19: 613-8.
13. Kaptein E, Sreeramou D, Kaptein J, Kaptein M. A systematic literature search and review of sodium concentrations of body fluids. *Clin Nephrol* 2016; 86: 203-28.
14. Goussault Y. Exploration biochimique des épanchements. *Rev Fr Lab* 1998; (300): 41-3.
15. Andreasson U, Perret-Liaudet A, van Waalwijk van Doorn LJC, Blennow K, Chiasserini D, Engelborghs S, *et al.* A practical guide to immunoassay method validation. *Front Neurol* 2015; 6: 179.
16. Poupon C, Lefèvre G, Ngo-François S, Alibeau C, Barbé F, Bourbonneux V, *et al.* Hemolysis interferences on frequently required stat analysis: a French multicentric study. *Ann Biol Clin (Paris)* 2015; 73: 705-16.
17. World Health Organization (WHO). *Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations & stability of blood, plasma and serum samples*. Geneva: WHO, 2002.
18. Hammel P. Intérêt diagnostique de l'analyse du liquide de ponction des lésions kystiques du pancréas : données actuelles, limites et perspectives. *J Radiol* 2000; 81: 487-90.
19. Ayadi-Kaddour A, Goutallier-Ben Fadhel C, Rezgui L, Lahmar-Boufaroua A, Khalfallah MT, Mzabi-Regaya S. Le cystadénome séreux macrokystique uniloculaire du pancréas : une variante morphologique à connaître. *Ann Chir* 2003; 128: 177-9.
20. Soyer OM, Baran B, Ormeci AC, Sahin D, Gokturk S, Evirgen S, *et al.* Role of biochemistry and cytological analysis of cyst fluid for the differential diagnosis of pancreatic cysts: a retrospective cohort study. *Medicine (Baltimore)* 2017; 96: e5513.
21. Chubb SP, Williams RA. Biochemical analysis of pleural fluid and ascites. *Clin Biochem Rev* 2018; 39(2): 39-50.
22. McMillan MT, Soi S, Asbun HJ, Ball CG, Bassi C, Beane JD, *et al.* Risk-adjusted outcomes of clinically relevant pancreatic fistula following pancreatoduodenectomy: a model for performance evaluation. *Ann Surg* 2016; 264: 344-52.
23. Pastré J, Roussel S, Israël Biet D, Sanchez O. Orientation diagnostique et conduite à tenir devant un épanchement pleural. *Rev Med Interne* 2015; 36: 248-55.
24. Tarn AC, Lapworth R. Biochemical analysis of ascitic (peritoneal) fluid: what should we measure? *Ann Clin Biochem* 2010; 47: 397-407.
25. Hooper C, Lee YCG, Maskell N. Investigation of a unilateral pleural effusion in adults: British Thoracic Society pleural disease guideline 2010. *Thorax* 2010; 65: ii4-17.
26. CEP. *Recommandations du Collège des enseignants de pneumologie 2018. ECN ITEM #202 – Épanchement pleural*. CEP, 2018.
27. Alric L. Ascite non cirrhotique. *Post' U* 2016: 91-7.
28. Light RW. Pleural effusions: the diagnostic separation of transudates and exudates. *Ann Intern Med* 1972; 77: 507.
29. Huang LL, Xia HH, Zhu SL. Ascitic fluid analysis in the differential diagnosis of ascites: focus on cirrhotic ascites. *J Clin Transl Hepatol* 2014; 2(1): 58-64.
30. Laurencet ME, Kherad O, Robert PJ, Younossian AB. Diagnostic, prise en charge et traitement du chylothorax. *Rev Med Suisse* 2016; 12: 245-9.