

## CONFRONTATION DU DOSAGE DES TRANSAMINASES ENTRE DEUX ANALYSEURS: *D'une évaluation de performances à une comparaison de méthodes.*

ALLOUI A.S.<sup>(1,2)</sup>, AMOKRANE E.<sup>(1)</sup>, DJEMAA M.<sup>(1)</sup>, MEKHNECHE F.<sup>(1)</sup>,  
BENAYACHE W.<sup>(1)</sup>, ABADI N.<sup>(1)</sup>, BENLATRECHE C.<sup>(1)</sup>.

1) Laboratoire de Biochimie CHU Constantine.

2) Laboratoire MEDPREVAC.

### RÉSUMÉ :

Les techniques utilisées pour mesurer l'activité plasmatique des transaminases reposent sur la cinétique de la diminution de la concentration du NADH, H<sup>+</sup> à 340 nm. Objectif : L'étude consiste en l'évaluation des performances analytiques du dosage des transaminases suivie de la comparaison des résultats obtenus sur des spécimens patients entre les deux analyseurs Dimension RxLR et ArchitectR ci 8200. La mesure de l'activité des transaminases sur les deux automates fait appel à deux ensembles de techniques différents. Les contrôles utilisés sont à deux niveaux de concentrations et les échantillons proviennent de patients hospitalisés et ambulatoires. L'étude comparative consiste en une évaluation séparée des performances de chaque analyseur suivie d'une évaluation de la concordance entre les deux méthodes selon le protocole Valtec. Les deux analyseurs présentent des performances analytiques satisfaisantes en termes d'imprécision. La justesse et l'inexactitude se révèlent presque inacceptable par rapport aux spécifications de performances de la SFBC. Cependant, l'inexactitude s'est révélée satisfaisante par rapport à la variation biologique. La comparaison de méthodes a démontré la non-concordance sur les deux analyseurs. La performance du Dimension RxLR pour le dosage des transaminases s'expliquerait par la présence de phosphate de pyridoxal dans la composition des réactifs.

*Mots clés : Transaminases, Analyseurs, Performances analytiques, Concordance.*

### ABSTRACT : DOSAGE CONFRONTATION OF THE TRANSAMINASES BETWEEN TWO ANALYZERS: *From a performance evaluation to a comparison of methods.*

Transaminases determination in the plasma allows for the detection of pathologies characteristic of liver (hepatitis, cirrhosis, drug toxicity, etc), muscular, and cardiac diseases. It is also performed in blood transfusion centers to detect at-risk blood donations. The most commonly adopted techniques for measuring plasma transaminases' activity are based on the same principle: the decrease in the concentration of NADH, H<sup>+</sup> proportional to the catalytic activity of transaminases, which is estimated by the measurement of the kinetics decrease in absorbance at 340 nm. The objective of this research is to study the analytical performances of transaminases' dosage, and to compare the results between the 2 analyzers, Dimension R RxL and ArchitectR ci8200, obtained from a set patients. To measure the activity of the plasma transaminases, the 2 analyzers, DimensionR RxL ArchitectRci8200, have satisfactory analytical performance in terms of inaccuracy. To reflect the actual performance of the analyzers, it would be unrealistic to only consider the stringent quality specifications recommended by the French Society of Clinical Biology, SFBC. This would entail to the systematic rejection of all our results. We argue, however, that it would be more desirable to offer several «classes» of accuracy according to different «categories» of labs, which would allow for a more cost-effective quality of management. As for the methods of comparison, we have determined that it shows a mismatch (or incompatibility) between the 2 sets of methods on both analyzers because of the lack of portability of results between Dimension RxL and R ArchitectR ci8200. Finally, we have also determined that the best performance of the analyzer Dimension RxL for the dosage of the transaminases' plasma is attributed to the presence of pyridoxal phosphate (PLP) in the reactant composition adapted Dimension RRxL.

*Key words: Transaminases, Analyzers, Analytical performance, Consistency.*

## INTRODUCTION

Les analyseurs Dimension RxLR [1] et ArchitectR ci 8200 [1] sont des automates multiparamétriques mesurant à la fois les paramètres usuels de biochimie et des protéines spécifiques. La détermination des transaminases dans le plasma permet la mise en évidence de pathologies caractéristiques d'une atteinte hépatique (hépatites, cirrhoses, toxicité des médicaments...), musculaire et cardiaque. Elle est également effectuée dans les laboratoires des centres de transfusion pour détecter les dons de sang à risque [2].

Les techniques les plus souvent adoptées pour mesurer l'activité plasmatique des transaminases reposent sur le même principe, celui de la diminution de la concentration du NADH, H<sup>+</sup>, proportionnelle à l'activité catalytique et qui est estimée par la mesure en cinétique de la diminution de l'absorbance à 340 nm [2]. L'objectif du présent travail est d'abord d'étudier les performances analytiques du dosage des transaminases puis de comparer les résultats obtenus sur des spécimens de patients entre les deux analyseurs Dimension RxLR et ArchitectR ci8200.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### 1. Matériel

#### a. Analyseurs

Les deux automates utilisés dans le cadre de cette étude sont le Dimension RxL<sup>R</sup> (Siemens), analyseur multiparamétrique de biochimie [3] et l'Architect<sup>R</sup> ci8200 (Abbott Diagnostics), analyseur intégré [3], automate de biochimie et d'immunoanalyse [1].

#### b. Techniques et Réactifs

La mesure de l'activité des transaminases plasmatiques sur ces deux analyseurs fait appel à deux ensembles de techniques différents [4,5].

Les principales caractéristiques de ces deux ensembles de techniques sont données par les fabricants et sont présentées sur le tableau I.

Tableau I. Principales caractéristiques des 2 ensembles de techniques.

	Dimension RxL <sup>R</sup>	Architect <sup>R</sup> ci8200
Principe réactionnel	Absorbance	Absorbance
Longueur d'onde de mesure	340/700nm	340nm
Température	37°C	37°C
PLP	Présent	Absent
Rapport de dilution	1/5	1/50
Type de calibration	Vérification (en 3 points)	Facteur
Fréquence de calibration	90 jours ou à chaque lot	27 jours ou à chaque lot
Durée du dosage (mn)	6,8	10

#### c. Spécimens biologiques

Nous avons utilisés des spécimens de contrôle commerciaux d'origine humaine, MultiquaR Biorad à deux niveaux de concentration (niveaux 1 et 2), lot n°45641,45642 et 45643 respectivement (péremption 31-08-2014).

Nous avons collecté un effectif composé de 100 échantillons (n=100) [7,8] provenant de patients hospitalisés et ambulatoires qui arrivent quotidiennement au laboratoire et dont les transaminasémies (en UI/l) sont uniformément distribuées sur l'intervalle de mesure. L'effectif est répartie en trois groupes [7,8] : groupe Bas (B) ≤ 30 UI/l, Moyen (M) 30-50 UI/l et Elevé (E) >50 UI/l. Les plasmas collectés, issus de prélèvements de sang veineux recueillis sur héparinate de lithium, sont fractionnés en deux parties composées chacune de cent aliquotes de 500 µl et conservés en plasmathèque à -20°C pour les besoins de ce travail. Après décongélation, homogénéisation et centrifugation

dans les mêmes conditions, les échantillons sont disposés sur les deux analyseurs.

## 2. Méthodologie

L'étude comparative consiste en une évaluation séparée des performances de chaque analyseur [6] suivie d'une évaluation de la concordance entre les deux ensembles de méthodes selon le protocole Valtec [7,8]. Elle s'est déroulée au niveau du Laboratoire Central de Biochimie du Centre Hospitalier Universitaire de Constantine au cours de la période allant de Février à Mars 2014.

Le premier temps, consiste en la réalisation d'une étude de performances de chacun des deux ensembles de techniques, par l'évaluation de la reproductibilité, de la justesse et de l'inexactitude [6], à partir des résultats obtenus sur les spécimens de contrôle dosés avant chaque série sur une période de vingt jours. Les résultats obtenus sont d'abord comparés aux limites d'acceptabilité proposées par la Société Française de Biologie Clinique SFBC [9], ensuite l'inexactitude observée pour chaque méthode est comparée à la limite d'erreur d'exactitude basée sur la variation biologique [10, 11,12].

Le second temps, consiste en une comparaison entre les deux ensembles de méthodes suivant les recommandations du protocole de Validation des Techniques Valtec de la SFBC [7,8], avec étude de la corrélation [12] puis des différences [14]. Les techniques adaptées sur Dimension RxL<sup>R</sup> sont considérées comme référence d'exactitude (par rapport à celles adaptées sur l'Architect<sup>R</sup> ci8200) en raison de leurs conditions de mesure plus proches de celles recommandées par la SFBC [2].

## 3. Statistiques

L'exploitation statistique des résultats a été réalisée à l'aide du logiciel Statistica StatSoft<sup>R</sup>, la droite de régression linéaire et le coefficient de corrélation r ont été utilisés pour l'étude de la corrélation. Les graphiques des différences selon Bland et Altman [14] ont été tracés manuellement sur papier millimétré en tenant compte des limites d'erreur d'exactitude de la SFBC.

## RÉSULTATS

Les résultats de reproductibilité obtenus au cours de notre protocole ainsi que leur comparaison avec les limites d'acceptabilité de la SFBC [9] sont présentés sur le tableau II.

Ainsi les CV obtenus sur les deux analyseurs sont inférieurs aux CV limites de la SFBC et ceci aux deux niveaux de concentration.

### 2. La justesse et l'inexactitude

Les résultats de justesse et d'inexactitude ainsi que leur comparaison avec les limites d'acceptabilité de la SFBC [9] sont regroupés dans le tableau III. La justesse (et l'inexactitude) est supérieure à la limite de la SFBC sur les deux analyseurs sauf au niveau moyen pour l'ALAT sur Dimension RxL<sup>R</sup>.

La comparaison de cette même inexactitude observée sur les

Tableau II. Résultats de reproductibilité (n=20) et comparaison avec les limites d'acceptabilité de la SFBC.

	Limite d'erreur de reproductibilité admissible CV%		Résultats obtenus au laboratoire			
	N1	N2	Dimension RxL <sup>R</sup>		Architect <sup>R</sup> ci8200	
			N1	N2	N1	N2
ASAT	6,00	5,00	2,21	1,33	1,81	1,46
ALAT	6,00	5,00	2,93	1,70	4,62	2,14

Tableau III. Résultats de justesse et d'inexactitude et comparaison avec les limites d'acceptabilité de la SFBC.

	Limite d'erreur de justesse admissible		Limite d'erreur de d'inexactitude admissible		Résultats obtenus au laboratoire									
	N1	N2	N1	N2	Dimension RxL <sup>R</sup>				Architect <sup>R</sup> ci8200					
					Justesse		Inexactitude		Justesse		Inexactitude			
ASAT	6,7	6,2	9,00	8,00	N1	N2	N1	N2	N1	N2	N1	N2		
ALAT	6,7	6,2	9,00	8,00	21,78	7,59	5,78	8,84	21,9	7,71	9,67	30,17	9,84	29,62
									6,8	9,00	29,58	25,30	30,52	25,39

deux analyseurs avec la limite d'exactitude basée sur la variation biologique [10] est présentée sur le tableau IV. L'objectif de performance «souhaitable» pour cette approche est la spécification de qualité la plus largement utilisée et généralement acceptée [10, 11,12].

Tableau IV. Comparaison de l'inexactitude observée avec la limite d'erreur d'exactitude basée sur la variation biologique.

	Limite d'erreur de justesse admissible	Résultats obtenus au laboratoire			
		Dimension RxL <sup>R</sup>		Architect <sup>R</sup> ci8200	
ASAT	19,2	N1	N2	N1	N2
ALAT	40,4	21,9	7,71	9,84	29,62
		6,8	9,00	30,52	25,39

L'inexactitude est inférieure à la limite admissible sur les deux analyseurs, sauf pour le niveau élevé de l'ASAT sur Dimension RxL<sup>R</sup>.

### 3. La comparaison de méthodes

Les droites de corrélation (n=100) obtenus pour les deux ensembles de méthodes sont représentées sur les figures 1 et 2 respectivement pour l'ASAT et pour l'ALAT.

Les équations obtenues par régression linéaire [11,12] sont :  
 $Y (\text{Architect}^R \text{ ci } 8200) = 0,69X (\text{Dimension RxL}^R) + 1,32$  avec  $r = 0,97$  pour l'ASAT

$Y (\text{Architect}^R \text{ ci } 8200) = 0,83X (\text{Dimension RxL}^R) - 18,20$  avec  $r = 0,99$  pour l'ALAT.

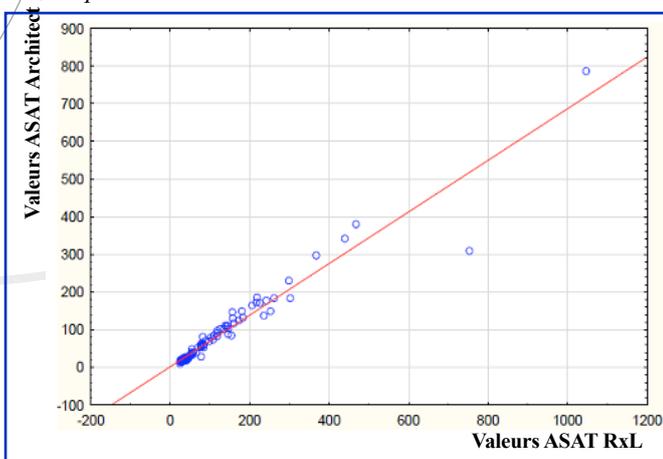


Figure 1. Graphique de corrélation ASAT.

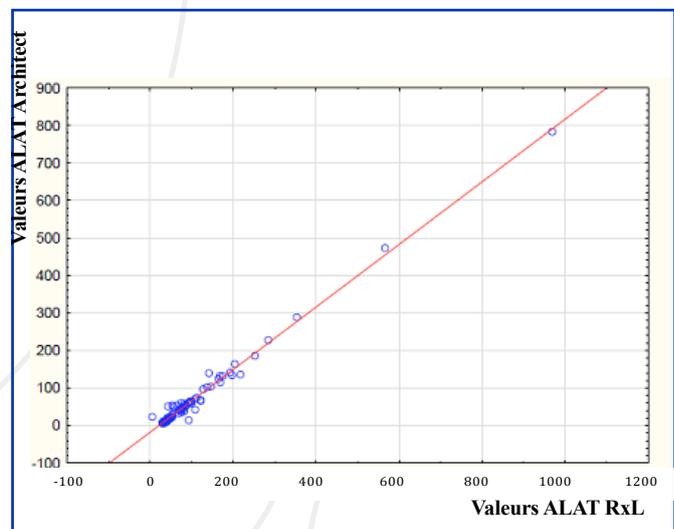


Figure 2. Graphique de corrélation ALAT.

Où Y : Variable dépendante (valeurs obtenues sur Architect) ;  
 X : Variable indépendante (valeurs obtenues sur Dimension par la méthode admise comme référence d'exactitude dans notre protocole);  
 r : Coefficient de corrélation entre les deux variables.

Les graphiques des différences selon Bland et Altman [12] sont représentés sur les figures 3 et 4 respectivement pour l'ASAT et pour l'ALAT.

## DISCUSSION

### 1. La reproductibilité, la justesse et l'inexactitude

La reproductibilité est très satisfaisante sur les deux analyseurs, tous les CV obtenus étaient inférieurs aux valeurs limites proposées par la SFBC. Cette reproductibilité qualifiée de satisfaisante est explicable par le fait que notre étude s'est déroulée sur une courte période et a été réalisée avec le même coffret réactif et le même étalonnage.

Par rapport aux spécifications de performances de la SFBC, la justesse est inacceptable sur analyseur Dimension RxL<sup>R</sup> sauf au niveau moyen pour l'ALAT, alors que sur l'analyseur Architect<sup>R</sup> ci8200, elle est inacceptable pour les deux transaminases aux deux niveaux de concentration.

Cependant, l'inexactitude s'est révélée satisfaisante dans l'approche de comparaison basée sur la variation biologique, sauf pour le niveau élevé de l'ASAT sur Dimension RxL<sup>R</sup> (erreur que l'on peut accepter pour un niveau de concentration élevé).

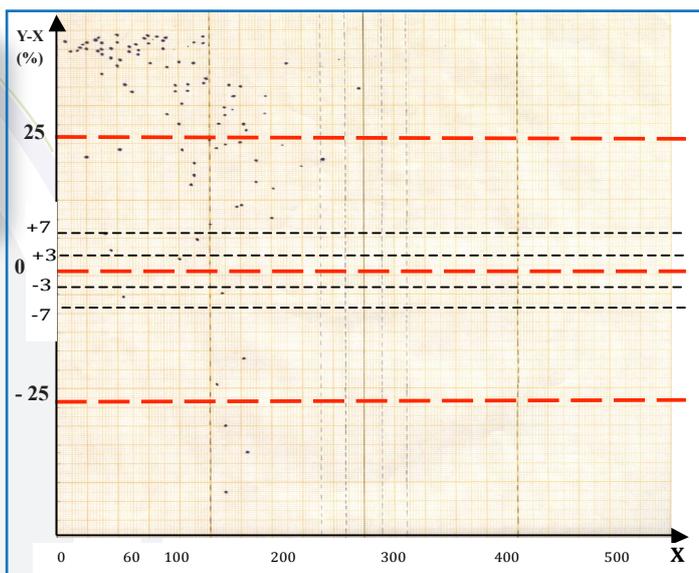


Figure 3. Graphique des différences ASAT.

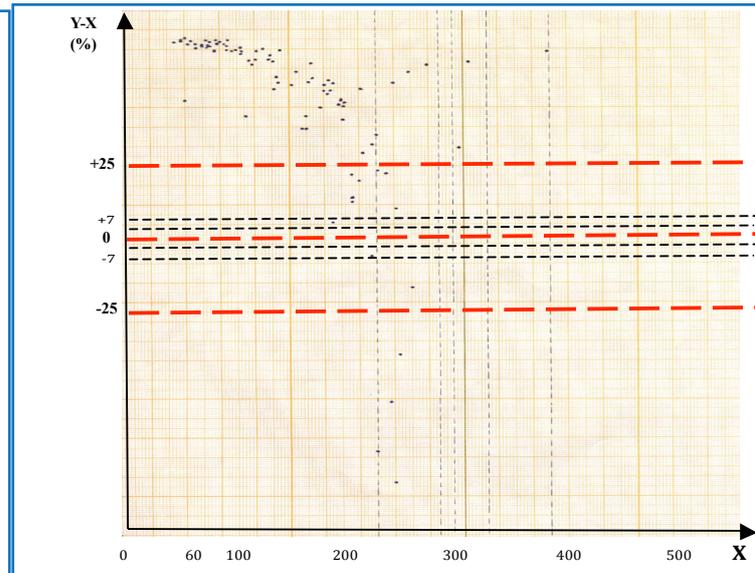


Figure 4. Graphique des différences ALAT.

La satisfaction aux exigences d'exactitude basées sur la variation biologique (exigences davantage physiopathologiques que métrologiques) nous a conduit à tolérer l'erreur analytique observée par rapport aux exigences de la SFBC, spécifications métrologiques fondées sur l'état de l'art jugées beaucoup trop strictes par rapport aux moyens de notre laboratoire.

## 2. La comparaison de méthodes

Les paramètres de régression (pentes et ordonnées à l'origine) sur les deux équations ne sont pas satisfaisants rendant compte de l'existence d'une erreur systématique à la fois proportionnelle et constante, les valeurs obtenues avec l'Architect<sup>R</sup> ci8200 sont les plus faibles puisque les pentes obtenues sont de 0,67 et 0,83 [13] respectivement pour l'ASAT et pour l'ALAT selon la méthode de calcul et la technique de comparaison. Les coefficients de corrélation «r» sont quant à eux très satisfaisants, avec 0,97 et 0,99 respectivement pour l'ASAT et pour l'ALAT rendant compte de l'importance de la relation linéaire entre les deux variables et non de leur degré de concordance [14].

Les deux graphiques des différences montrent que tous les points sont situés en dessous de l'horizontale d'ordonnée nulle pour les trois niveaux de concentration. Cependant, il existe deux points aberrants sur le graphique des différences de l'ALAT dont l'origine est attribuée à des erreurs grossières. Pour l'ASAT les deux méthodes de dosage des transaminases sont concordantes seulement aux concentrations élevées (un quart des points), alors qu'elles sont non concordantes pour l'ALAT aux trois niveaux de concentration.

Les différences observées entre les performances analytiques des deux analyseurs et l'absence de concordance entre les deux ensembles de techniques s'expliquent en grande partie par la présence de phosphate de pyridoxal dans les réactifs adaptés sur Dimension RxL<sup>R</sup>.

## CONCLUSION

Pour la mesure de l'activité des transaminases plasmatiques, les deux analyseurs Dimension RxL<sup>R</sup> et Architect<sup>R</sup>ci8200 présentent des performances analytiques satisfaisantes en termes d'imprécision.

Afin de tenir compte des performances réelles de nos analyseurs, il serait illusoire de tenir compte uniquement de limites d'acceptabilité aussi sévères que celles de la Société Française de

Biologie Clinique SFBC, cela entraînerait le rejet systématique de tous nos résultats et il serait souhaitable donc de proposer à notre point de vue plusieurs «classes» de spécifications selon les «catégories» de laboratoires ce qui permettrait une gestion plus économique de la qualité.

Quant à la comparaison de méthodes, elle a démontré juste une concordance aux concentrations élevées pour l'ASAT (concentrations supérieures à 60UI/L), ceci étant à l'origine de l'absence de transférabilité des résultats entre Dimension RxL<sup>R</sup> et Architect<sup>R</sup> ci8200.

La meilleure performance de l'analyseur Dimension RxL<sup>R</sup> pour le dosage des transaminases plasmatiques s'expliquerait par la présence de phosphate de pyridoxal dans la composition des réactifs, élément recommandé par les sociétés savantes pour l'optimisation des techniques de dosage des transaminases.

## RÉFÉRENCES

1. Margas J.M, Perrier S., Vernes A. Automation et analyseurs en biochimie et immuno-analyse. IRBM News. 2013 ; 34 :4-11.
2. Vassault A. Aminotransférases, EMC-Biologie médicale. 2003 [Article 90-10-0130].
3. Grafmeyer D. Automatisation en biochimie. EMC-Biologie médicale. 2006 [Article 90-65-0045].
4. c8000 Aeroset Package Insert Manual. Abbott diagnostics.
5. Specifications Tests Dimension. Version 17; 01-07. Siemens Healthcare.
6. COFRAC. Les contrôles de qualité analytique en biologie médicale, Document LAB GTA 06 - Révision 00 – Juillet 2005 – www.cofrac.fr.
7. Vassault A, Grafmeyer D, Naudin C et al. et les membres de la commission « validation de techniques » de la SFBC. Protocole de validation des techniques (doc B) ; Ann Biol Clin. 1986; 44: 686-745.
8. Hainque B, Baudin B, Lefèvre P. Bonnes pratiques de laboratoires, Appareils et méthodes en Biochimie et Biologie Moléculaire. Edition Médecine Sciences Publications. 2008: 52-56.

**9. Vassault A, Grafmeyer D, De Graeve J, Cohen R, Beaudonnet A, Bienvenu J.** Analyse de biologie médicale. Spécifications et normes d'acceptabilité à l'usage de la validation de techniques. *Ann Biol Clin.* 1999; 57: 685-95.

**10. Fraser CG.** Biological Variation: From Principles To Practice, AACC Press. 2001.

**11. Ricos C, Cava F, Garcia-Lario J.V, Hernandez A, Jiminez C.V, Minchinela J, Perich C & Simon M.** Current databases on biological variation: pros, cons and progress, *Scand J Clin Lab Invest.* 1999; 59: 491-50.

**12. Ricos C.** Biological variation database specification 2010; [www.westgard.com/biodatabase1.htm](http://www.westgard.com/biodatabase1.htm).

**13. Morin J.F, Godet J.P, Galland F.** Corrélation et régression : intérêt dans l'évaluation des méthodes de dosage, *Techniques au Quotidien.* 1987; 2, 3: 37-39.

**14. Grenier B, Dubreuil M, Journois D.** Comparaison de deux méthodes de mesure d'une même grandeur : méthode de Bland et Altman, *Ann Fr Anesth Réanim.* 2000; 19: 128-35.