

Comparaison de trois paramètres biochimiques d'urgence sur VITROS® 350 versus Dimension® EXL 200

Comparison between VITROS® 350 and Dimension® EXL 200 for determining three emergency biochemical parameters.

Meriem BOUTEBBA¹, Karima BENEMBAREK¹

¹ Service de Biochimie, CHUC, Faculté de Médecine de Constantine

Meriem BOUTEBBA: meriemboutebba@gmail.com

Résumé : *Objectif :* L'objectif de notre travail est d'évaluer quelques paramètres d'urgence sur le VITROS® 350 (Ortho Clinical Diagnostics) qui utilise la chimie sèche comme technologie et qui est relativement nouveau sur lequel nous n'avons pas de retour d'expérience et de les comparer à Dimension® EXL200 (Siemens-healthineers) en termes de performances techniques et analytiques.

Méthodes : Nous avons évalué les performances analytiques du VITROS® 350 selon les dernières recommandations du protocole de validation de techniques de la Société française de biologie clinique (SFBC). Ainsi, nous avons testé le glucose, le sodium et le potassium plasmatiques. La répétabilité et la reproductibilité ont été testées sur du matériel de contrôle. Une étude de comparaison et de corrélation sur des sérums de patients entre le VITROS® 350 et le Dimension® EXL200 a été également réalisée en utilisant la droite de régression et l'analyse de Bland-Altman.

Résultats : Les coefficients de variation (CVs) obtenus pour la répétabilité et la reproductibilité sont inférieurs à 5% mais la majorité sont supérieurs aux CVs limites de la SFBC et ceci aux deux niveaux de concentration.

L'étude de comparaison a montré une corrélation significative et parfaite pour le glucose et le potassium ($r=0.997$, $p<0.001$; $r=0.995$, $p<0.001$ respectivement) et acceptable pour le sodium ($r=0.85$, $p<0.001$). Les biais des 3 paramètres sont quasi nuls et les limites de concordance à 95% pour le glucose et le potassium sont très proches d'où une concordance excellente. *Conclusion :* Les études de comparaison du VITROS® 350 avec Dimension® EXL200 ont montré des corrélations satisfaisantes. Ainsi, nous avons pu vérifier que la chimie sèche est une bonne alternative aux autres méthodes pour le dosage du potassium et du glucose. Cependant, une étude plus étendue et approfondie est souhaitable afin d'évaluer les autres paramètres.

Mots clés : VITROS®350, Dimension® EXL200, comparaison, sodium, potassium, glucose, performance analytique.

Abstract: Objective: The aim of this study was to evaluate the analytical and the technical performances of some emergency biochemical parameters on VITROS® 350 (Ortho Clinical Diagnostics) that uses the dry chemistry as a principle of procedures and which is relatively new on which we have no feedback and to compare them with Dimension® EXL200 (Siemens-healthineers).

Methods: The study of the analytical performance of the VITROS® 350 was conducted according to the recommendations of the French Society of Clinical Biology technical validation protocol. Thus, we have tested plasmatic glucose, sodium and potassium. The intra-assay imprecision and the inter-assay imprecision was tested using two levels of quality control material. The correlation and comparison studies between the two analyzers on patients serums were conducted using the regression analysis and the Bland-Altman plot.

Results: The study of precision have demonstrated acceptable coefficients of variation (CVs) for the three parameters (<5%) but most of them were higher than the CVs limits setted by the French Society of Clinical Biology.

In the method comparison study the correlation between VITROS® 350 and Dimension® EXL200 for determining plasma glucose and potassium is very good ($r=0.997$, $p<0.001$; $r=0.995$, $p<0.001$ respectively), and acceptable for the sodium ($r=0.85$, $p<0.001$). The Bland-Altman analysis have shown an excellent concordance between the two analyzers for the glucose and potassium and a medium concordance for sodium.

Conclusion: Our evaluation has demonstrated that the dry chemistry is a good alternative to other procedures of determination of plasmatic glucose, sodium and potassium levels. However, more studies are needed to evaluate the analytical performance of the other parameters.

Key words : VITROS ® 350, Dimension® EXL200, comparison, sodium, potassium, glucose, analytical performance.

Introduction :

Les techniques d'analyse ont connu une évolution très marquante ces dernières décennies. Ainsi, avec l'apparition de la microinformatique vient le développement de la réflectométrie qui ont donné naissance à la chimie sèche. En 1978, plusieurs tests colorimétriques ont été convertis sous forme de fine couche utilisant la chimie sèche comme principe par la firme Kodak Ektachem (actuellement Johnson and Johnson Vitros Analyzers) qui a commencé à commercialiser ses analyseurs avec 12 analytes après l'approbation par la FDA à partir de 1980. La nature discrète et l'excellente stabilité des films multicouches a fourni une alternative flexible aux analyseurs séquentiels multi chaînes.

[1, 2, 3]

La technique n'a pas cessé d'être développée pour permettre l'analyse d'autres substrats sur les différentes matrices (sang total, plasma, sérum, urines, LCR). [3]. Les tests basés sur la chimie sèche sont faciles à manipuler et reposent sur l'utilisation de plaques qui permettent l'exécution de séquences réactionnelles qui sont difficiles à effectuer par la chimie liquide. Chaque plaque se compose d'un support recouvert d'un film analytique multicouche possédant des propriétés physico-chimiques comme la filtration, l'adsorption sélective ou l'optimisation cinétique ce qui offre une base pour que de multiples réactions soient effectuées sur une seule plaque. Ainsi, la chimie sèche élimine l'utilisation de liquide offrant une meilleure stabilité, prolonge la durée de vie du réactif et offre plusieurs avantages tels que la calibration préprogrammée, la facilité de manipulation et l'utilisation extrêmement simplifiée. [4]

Objectif : Nous disposons au niveau du laboratoire de biochimie médicale l'automate VITROS® 350 (Ortho Clinical Diagnostic) qui utilise la chimie sèche comme technologie et qui est relativement nouveau sur lequel nous n'avons pas de retour d'expérience d'où l'intérêt de notre travail qui vise à évaluer trois paramètres d'urgence (sodium, potassium et glucose) sur cet

analyseur et de les comparer au Dimension® EXL200 (Siemens) en termes de performances analytiques. L'étude a été effectuée au niveau du laboratoire de biochimie médicale du CHU de Constantine durant le mois de février 2019.

Méthodes :**1. Les automates :**

On a travaillé dans notre étude sur deux analyseurs utilisant chacun une technique différente : la chimie sèche (VITROS® 350) et la chimie liquide (Dimensions® EXL200).

1.1. L'automate VITROS® 350 :

Le système VITROS® 350 est un automate multiparamétrique de biochimie qui utilise la technologie MicroSlide™ (supports de réactifs dits secs) et offre un environnement de tests intégrés sur un support multi-couches révélés par réflectométrie. Il s'agit d'un système fermé qui travaille en accès continu sur tubes primaires, micro cupules ou godets. La prise d'essai varie de 5 à 11 µL et utilise comme principe de dosages des méthodes colorimétriques, potentiométriques directes avec un calibrage étendu. [5]

1.2. L'automate Dimensions® EXL200 :

L'automate Dimension® EXL 200 (Siemens-healthineers) est un système de chimie intégré qui permet le traitement simultané des analyses de chimie et d'immunoanalyse avec un LOCI® de chimiluminescence. La prise d'essai varie de 2-60 µL et utilise la spectrophotométrie, la potentiométrie indirecte ainsi que l'immunochimie comme principe de dosage. [6]

2. Réactifs :

L'étude d'évaluation et de comparaison des deux analyseurs a concerné 3 paramètres : le glucose, le potassium et le sodium plasmatiques.

1.1. Le glucose :

Le dosage de la glycémie à jeun et de l'hyperglycémie provoquée permettent d'établir le diagnostic de diabète sucré et de troubles du métabolisme des hydrates de carbone.

Il permet aussi de surveiller les traitements des sujets diabétiques ou présentant une déshydratation, un coma, une hypoglycémie, un insulinome, une acidose ou une acidocétose. Dans

Journal Algérien de Biochimie et de Génétique Médicales
notre étude le glucose a été mesuré par deux méthodes différentes sur les deux analyseurs : la méthode GOD/POD sur support de chimie sèche sur VITROS®350 et la méthode de l'hexokinase sur Dimensions® EXL200. Sur VITROS® 350 le dosage du glucose plasmatique s'effectue sur une plaque représentée dans la figure1 qui est constituée d'un support en polyester recouvert d'un film analytique multicouche. Une goutte d'échantillon de patient est déposée sur la plaque, puis répartie uniformément par la couche d'étalement dans les couches sous-jacentes. Par la suite, le glucose est quantifié selon la méthode enzymatique colorimétrique au glucose oxydase/ peroxydase. L'intensité du colorant oxydé est mesurée par la lumière réfléchiée à 540 nm. [7,8] . Tandis que le système de chimie clinique liquide Dimension® EXL200 utilise une adaptation de la méthode de l'hexokinase-glucose-6-phosphate déshydrogénase pour la détermination quantitative du glucose dans le sérum et le plasma humains. L'absorbance due au NADH (et donc, à la concentration de glucose) est déterminée grâce à une technique bichromatique en point final (340nm et 383 nm). [9]

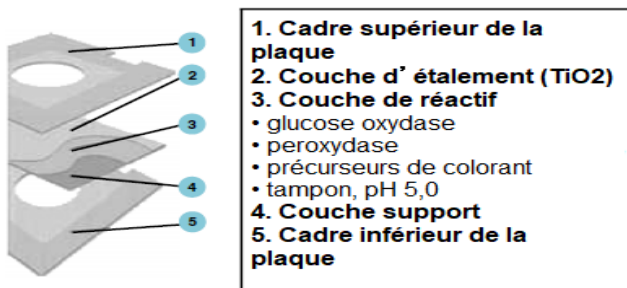


Fig1. Structure de la plaque GLU VITROS (fiche technique GLU Vitros)

2.2. Le sodium et le potassium :

Le dosage des électrolytes principalement le sodium et le potassium sert à surveiller l'équilibre hydro-électrolytique de l'organisme et de certaines pathologies principalement rénales et hépatiques.

Le dosage du sodium et du potassium sur le VITROS® 350 s'effectuent selon le principe de la potentiométrie directe présenté dans la figure2 sur une plaque constituée d'un support en polyester recouvert d'un film analytique multicouche permettant de doser les ions sodium par potentiométrie directe. [10] La plaque est

constituée de deux électrodes sélectives contenant chacune de la méthyl monensine (un ionophore du sodium), une couche de référence et une couche d'argent et de chlorure d'argent recouvrant un support en polyester. Après application d'une goutte d'échantillon patient d'un côté de la plaque et d'une goutte de liquide de référence des électrolytes VITROS de l'autre côté, on observe une migration des deux liquides vers le centre du pont en papier. Une jonction stable des liquides se forme, connectant l'électrode de référence à l'électrode de l'échantillon. Chaque électrode produit un potentiel électrochimique en réponse à l'activité du sodium/potassium. La différence de potentiel entre les deux électrodes est proportionnelle à la concentration en sodium de l'échantillon. [11]

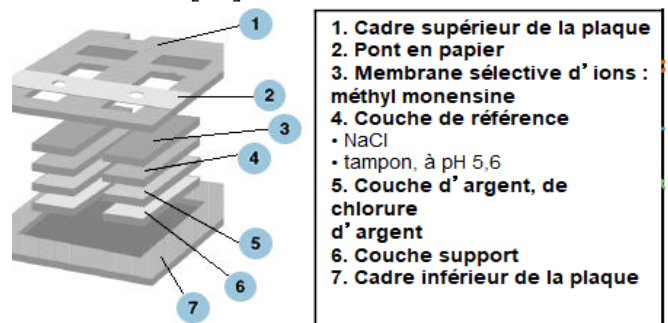


Fig2. Structure de la plaque Na⁺/K⁺ VITROS (fiches techniques Na⁺/K⁺ Vitros)

Cependant, ce dosage s'effectue sur Dimensions® EXL200 par le principe de la potentiométrie indirecte grâce à la technologie de multi capteur intégré IMT afin de développer un potentiel électrique proportionnel à l'activité de chaque ion spécifique de l'échantillon. Après le positionnement d'un échantillon dilué sur le capteur, les ions Na⁺ et K⁺ établissent un équilibre avec la surface de l'électrode. Un potentiel est généré, proportionnel au logarithme de l'activité de l'analyte dans l'échantillon. On compare le potentiel électrique généré sur un échantillon à celui généré sur une solution standard et on calcule la concentration des ions voulus grâce à l'équation de Nernst. [12]

3. Echantillons :

Pour l'étude des performances analytiques du VITROS® 350 on a utilisé des spécimens de contrôle de chimie liquide des laboratoires Ortho

Journal Algérien de Biochimie et de Génétique Médicales
 Clinical Diagnostics : le Performance Verifier I (PVI) lot n°: 6272 et le Performance Verifier II (PVII) lot n°: 6274. Pour l'étude de comparaison entre les deux analyseurs on a travaillé sur des échantillons plasmatiques de patients hospitalisés au niveau du CHU de Constantine reçus au niveau de notre laboratoire de biochimie pour un traitement d'urgence. Le nombre et la distribution des échantillons utilisés suivent les règles de la loi normale.

4. Protocole d'évaluation des performances analytiques sur VITROS® 350:

Nous avons évalué les performances analytiques du VITROS® 350 selon les dernières recommandations du protocole de validation de techniques de la Société Française de Biologie Clinique (VALTEC) [13] qui consiste en l'évaluation de la précision à partir des résultats obtenus sur les spécimens de contrôle sur une période de temps et leurs comparaisons aux limites d'acceptabilité proposées par la SFBC.

Ainsi, on a évalué la répétabilité et la reproductibilité du glucose, potassium et sodium a été effectuée et les coefficients de variations (CVs) ont été comparés avec les CVs de référence de la SFBC:

-**La répétabilité** : a été évalué sur 30 passages successifs de contrôles PVI et PVII dans les mêmes conditions.

-**La reproductibilité** : a été évalué sur plus de 30 passages de contrôles PVI et PVII, étalés sur plusieurs jours.

Tableau 1. Etude de la répétabilité et de la reproductibilité

		Sodium		Potassium		Glucose	
		PV1	PV2	PV1	PV2	PV1	PV2
CV de l'étude de Répétabilité (%)	VITROS	1.065	1.68	0.92	1.85	1.83	1.94
	SFBC	1	0.8	1.5	1.2	1.8	1.2
CV de l'étude de Reproductibilité (%)	VITROS	2.8	1.6	4.4	5.5	2	1.9
	SFBC	1.3	1.1	1.6	1.6	3.2	2.4

Ainsi les coefficients de variation (CVs) obtenus pour la répétabilité et la reproductibilité sont inférieurs à 5% mais la majorité sont supérieurs aux CVs limites de la SFBC et ceci aux deux niveaux de concentration.

2. Etude comparative VITROS® 350 versus Dimension® EXL :

Le choix des paramètres a été fait sur la base de la disponibilité des réactifs au sein de notre laboratoire de biochimie médicale du CHU de Constantine

5. Protocole de comparaison des paramètres sur VITROS® 350 versus Dimension® EXL 200 :

Une étude de comparaison des résultats des paramètres sériques étudiés (glucose, sodium et potassium) sur les échantillons plasmatiques entre VITROS® 350 et Dimension® EXL 200 a été menée en suivant les recommandations du protocole de Validation des Techniques Valtec de la SFBC.[13] qui consiste en une étude de la corrélation entre les résultats des dosages obtenus par les deux automates et une étude des différences en utilisant les graphes de Bland et Altman.

6. Analyse statistique :

Toutes les analyses statistiques ont été effectuées par le logiciel Microsoft Office ® Excel (Microsoft Corporation, USA) version 2007. La comparaison a été effectuée en utilisant le graphe de Bland-Altman. La limite de signification choisie était de $p < 0,05$.

Résultats :

1. Etude de la précision :

Les résultats de la répétabilité et de la reproductibilité obtenus au cours de notre étude ainsi que leur comparaison avec les limites d'acceptabilité de la SFBC [13] sont présentés sur le tableau 1.

Pour les analytes choisis, des plasmas humains ont été dosés simultanément sur le VITROS® 350 et le Dimension® EXL. La corrélation entre les résultats des dosages obtenus par les deux techniques a été calculée.

Les équations des droites de régression et les coefficients de corrélation figurent sur le tableau 2.

Tableau 2. Corrélation des différentes techniques

Paramètre	Moyenne		Droite de régression	Coefficient de corrélation	Coefficient de détermination	p-value
	VITROS® 350	Dimension® EXL200				
Glucose (g/L)	1.841 ± 0.77	1.89 ± 0.79	VITROS=1,034 EXL - 0,009	r = 0,997	R ² =0,994	<0.001
Sodium (mmol/L)	136.82 ± 7.89	135.85 ± 6.07	VITROS=1,110 EXL - 13,92	r = 0,85	R ² = 0,729	<0.001
Potassium (mmol/L)	4.61 ± 1.22	4.645 ± 1.2	VITROS=0,981 EXL + 0,123	r = 0,995	R ² = 0,9904	<0.001

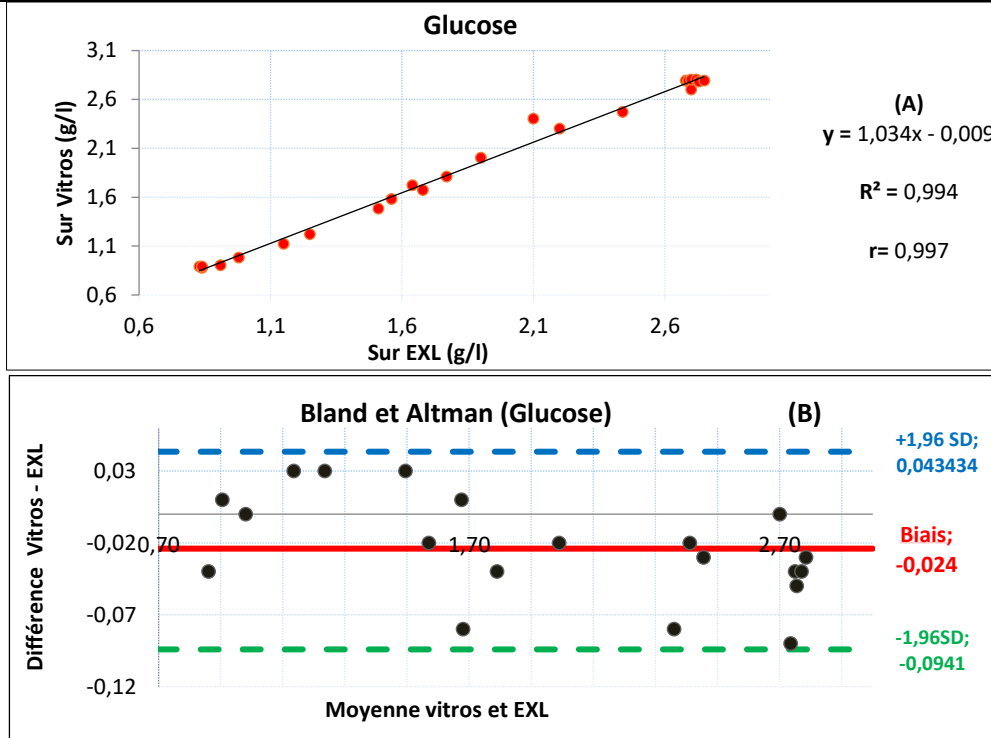


Fig3. A. Analyse de la corrélation entre le VITROS et l'EXL du paramètre glucose. La droite de régression est $VITROS = 1.034EXL - 0.009$. Le coefficient de corrélation est de 0.997. B. Le graphe de comparaison Bland-Altman VITROS versus EXL pour le glucose.

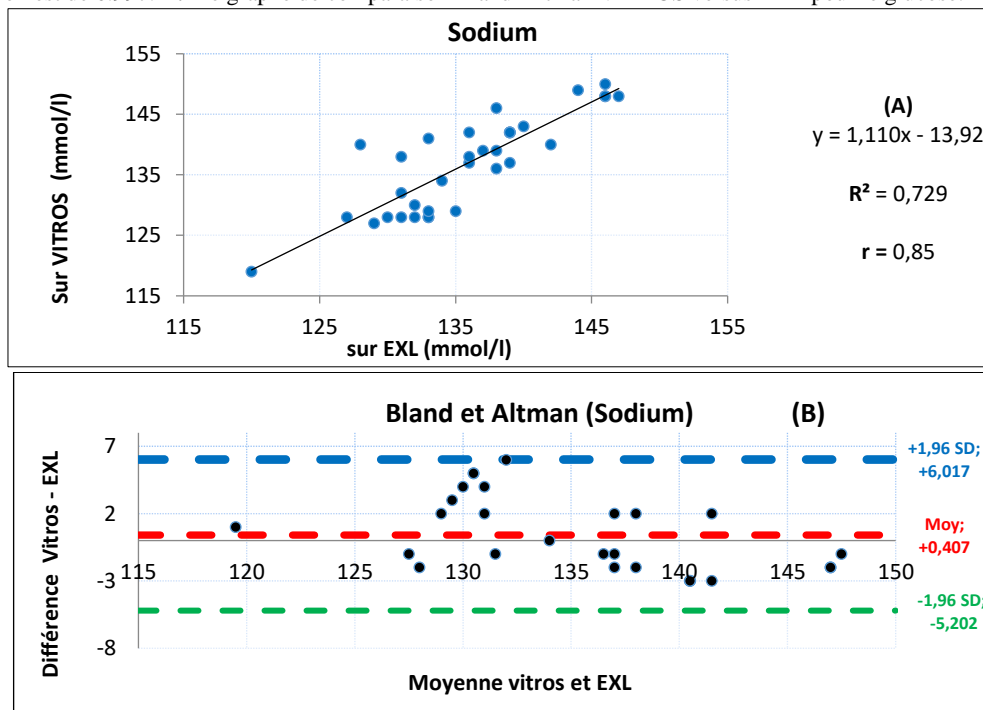


Fig4. A. Analyse de la corrélation entre le VITROS et l'EXL du paramètre sodium. La droite de régression est $VITROS = 1.11EXL - 13.92$. Le coefficient de corrélation est de 0.85. B. Le graphe de comparaison Bland-Altman VITROS versus EXL pour le sodium.

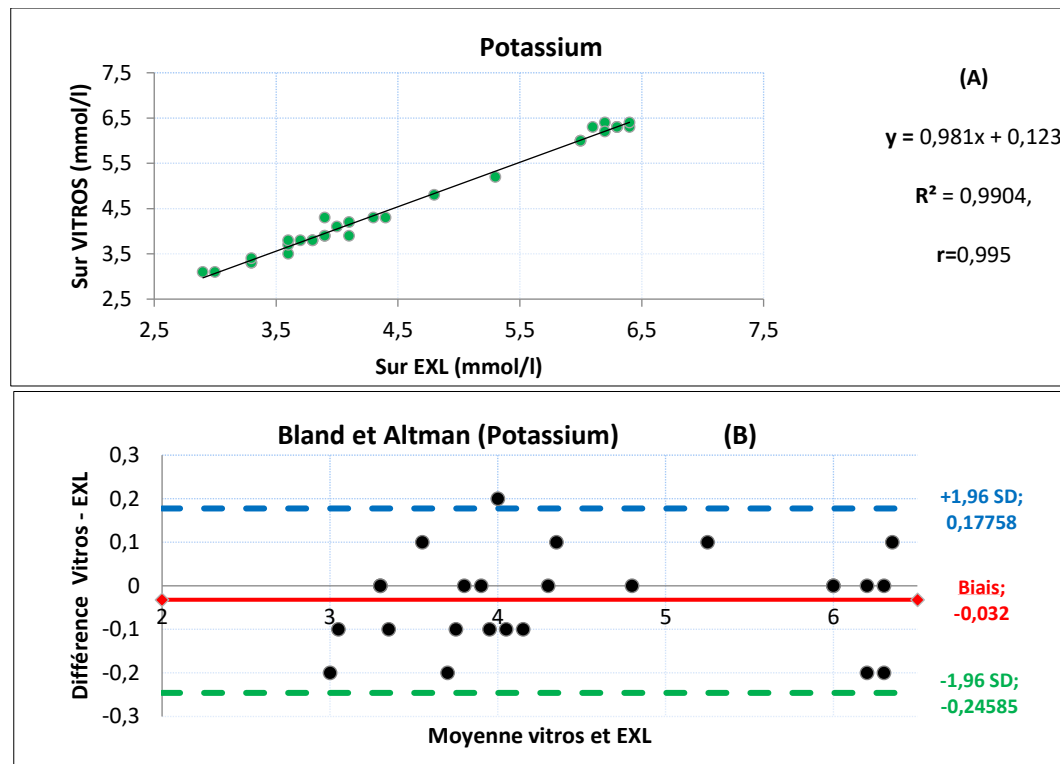


Fig5. A. Analyse de la corrélation entre le VITROS et l'EXL du paramètre potassium. La droite de régression est $VITROS = 0.981EXL + 0.123$. Le coefficient de corrélation est de 0.995. **B.** Le graphe de comparaison Bland-Altman VITROS versus EXL pour le potassium.

Discussion :

Dans cette étude on a évalué les performances du VITROS® 350 exploité au niveau de notre laboratoire de biochimie pour quelques paramètres d'urgence. Les résultats de répétabilité et de reproductibilité sont acceptables pour les 3 paramètres testés par rapport aux normes de la SFBC. La corrélation sérique comparée à la méthode de référence est significative et parfaite pour le glucose ($r=0.997$, $p<0.001$) pour des valeurs se situant entre 0,7 et 3g/l. Elle est également excellente pour le potassium ($r=0.995$, $p<0.001$). Elle est acceptable pour la natrémie ($r=0.85$, $p<0.001$) pour les valeurs se situant entre 118 et 152 mmol/l. Les biais des 3 paramètres sont quasi nuls et les limites de concordance à 95% pour le glucose et le potassium sont très proches d'où une concordance excellente. Cependant, l'intervalle des limites de concordance pour la natrémie est large. Cela est déjà connu et beaucoup d'études ont déjà montré que les résultats rendus par les appareils VITROS utilisant la potentiométrie directe sont plus élevés que ceux

des appareils utilisant la potentiométrie indirecte [14] mais ils sont comparables à la méthode de référence : la photométrie de flamme.[15] Ce phénomène est expliqué par l'effet de concentrations élevées de protéines et de lipides sur le sodium dosé par la potentiométrie indirecte causant une pseudo hyponatrémie : une interférence qui est éliminée par la potentiométrie directe (VITROS) ; la potentiométrie indirecte comme la spectrométrie de flamme nécessite une dilution préalable et exprime ses résultats en molarité. La potentiométrie directe ne nécessite pas de dilution préalable et se développe dans le domaine de la chimie sèche. Elle rend ses résultats en molalité qui sont ensuite convertis en molarité. Ainsi, les méthodes utilisant une dilution et mesurant des molarités sont sensibles aux variations d'eau plasmatique. Dans les cas où l'eau plasmatique est diminuée (hyperlipémie ou hyperprotidémie) des pseudohyponatrémies pourront être observées. La méthode de potentiométrie directe donne des résultats initiaux en molalité transformée en molarité pour respecter

Journal Algérien de Biochimie et de Génétique Médicales
 les habitudes et les normes de natrémie ; elle est donc insensible aux variations d'eau plasmatique et ne donnera pas de pseudohyponatrémie. Les performances analytiques de ces méthodes de dosage sont toutes excellentes et les résultats sont cliniquement concordants mais non identiques ce qui peut poser des problèmes devant la multiplication des appareillages d'où la nécessité de répéter les dosages sur le même automate. [16, 17, 18, 19].

Conclusion : Les études de comparaison du VITROS® 350 avec Dimension® EXL200 ont montré des corrélations satisfaisantes. Ainsi, nous avons pu vérifier que la chimie sèche est une bonne alternative aux autres méthodes pour le dosage du potassium et du glucose. Il faut également mentionner l'importance de l'interprétation des résultats en respectant les valeurs de référence mentionnées par le fabricant et la nécessité du bon choix de la méthode utilisée pour le dosage de la natrémie lorsque cela est possible. Enfin, une étude étendue à la totalité des paramètres sur le VITROS® 350 est souhaitable.

Conflits d'intérêt : Les auteurs déclarent ne pas avoir de conflit d'intérêt.

Références :

1. Dappen GM, Cumbo PE, Goodhue CT, Lynn SY, Morganson CC, Nellis BF, et al. Dry film for the enzymic determination of total cholesterol in serum. *Clin Chem* 1982; 28:1159-62.
2. Curme HG, Columbus RL, Dappen GM, Eder TW, Fellows WD, Figueras J, et al. Multilayer film elements for clinical analysis: general concepts. *Clin Chem* 1978; 24:1335-42.
3. Henry Curme, Royden N. Rand. Early history of Eastman Kodak Ektachem slides and instrumentation. *Clinical Chemistry* 1997; 43:9; 1647-52.
4. Raghbir Singh Khandpur. *Compendium of Biomedical Instrumentation. Volume 1.* Edition John Wiley & Sons, LTd. 2020 : 453-456.
5. Tietz NW. *Textbook of Clinical Chemistry.* 2eme édition. Philadelphia. Edition WB Saunders. 1994 : 928-960.
6. Technical specifications, Dimensions EXL 200 integrated chemistry system. Date d'édition: 11-2019.
7. Vitros 350 Chemistry System Specifications. Année d'édition: 2005.

8. Trinder P. Determination of Glucose in Blood Using Glucose Oxidase with an Alternative Oxygen Receptor. *Ann. Clin. Biochem.* 6:24; 1969.
9. Fiche technique SIEMENS Dimension clinical chemistry system, flex reagent cartridge GLU. Date d'édition: 01-04-2019.
10. Siggard-Anderson O. Electrochemistry, in Tietz NW (ed). *Textbook of Clinical Chemistry.* Philadelphia: WB Saunders. 1986; 110-125.
11. CLSI. *Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline-Fourth Edition.* CLSI document M29-A4. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2014.
12. Fiche technique SIEMENS QuikLYTE® Integrated Multisensor Na+ / K+ / Cl-. Date d'édition : 19-07-2019.
13. Vassault A., Grafmeyer D., Grasve J., Cohen, R., Beaudonn et A., Bienvenu J., *Analyses de biologie médicale : spécifications et normes d'acceptabilité et l'usage de validation de techniques,* *Ann. Biol. Clin.* 1999; 57: 685-695.
14. Hélène T., Abderraman B., Christophe R., Anne-Cécile G., Philippe V. Evaluation des performances analytiques de l'analyseur vitros® 5,1 FS. *Revue Francophone des Laboratoires,* Juillet-aout 2007, N°394.
15. D'Orazio P, Miller WG, Myers GL, et al. *Standardization of Sodium and Potassium Ion-Selective Electrode Systems to the Flame Photometric Reference Method; Approved Standard-Second Edition, C29-A2* [electronic document]. CLSI. 2000; 20:1-22.
16. Apple FS, Koch DD, Graves S, Landenson JH. Relationship between direct-potentiometric and flame photometric measurement of sodium in blood. *Clin Chem.* 1982; 28:1931-35.
17. Lang T, Prinsloo P, Broughton AF, Lawson N, Marenah CB. Effect of low protein concentration on serum sodium measurement; Pseudohypernatremia and pseudonormonatremia. *Ann Clin Biochem.* 2002; 39:66-67.
18. Goce D et al. Disagreement between ion selective electrode direct and indirect sodium measurements: Estimation of the problem in a tertiary referral hospital. *Journal of Critical Care,* 2012; Vol. 27(3):326.
19. J.-P. Cristol, B. Balint, B. Canaud, M.-F. Daurès. *Méthodes de dosage du sodium dans les liquides biologiques. Néphrologie & Thérapeutique. Volume 3, Supplement 2, 2007: 104-111*