

Vérification de la méthode de dosage sérique et urinaire du Glucose par méthode enzymatique à l'hexokinase sur l'automate Alinity au laboratoire de biochimie-CHU Ibn Rochd de Casablanca, Maroc

[Verification of the serum and urinary Glucose assay method by enzymatic hexokinase method on the Alinity automaton at the biochemistry laboratory-CHU Ibn Rochd in Casablanca, Morocco]

D. Benzekri¹⁻², A. Boujmad¹⁻², A. Morjan¹⁻²⁻³, and N. Kamal¹⁻²⁻³

¹Laboratoire de biochimie, CHU Ibn Rochd de Casablanca, Morocco

²Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Hassan II, Casablanca, Morocco

³Laboratoire d'Immunologie Clinique et d'Immuno-Allergie (LICIA), Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Hassan II, Casablanca, Morocco

Copyright © 2022 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the *Creative Commons Attribution License*, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT: The verification/validation of a method is a necessary prerequisite before any activity in a medical biology laboratory. Also, it is important to remember the control of the risks associated with any dosing method as well as the impact of pre-analytical conditions on the post-analytical step. The objective of this work is to evaluate the analytical performance of serum and urinary glucose assay using the hexokinase enzymatic method of the manufacturer Abbott on the Alinity automaton of the same manufacturer. The verified parameters are reproducibility and repeatability, through the results of internal quality controls retrieved by creating procedures in the section of validation/verification of methods in our software: Big. The results of the performance evaluation in terms of reproducibility and repeatability demonstrate a perfect compliance of this method of serum and urine glucose determination by the Abbott kit on the Alinity PLC of the same manufacturer.

KEYWORDS: verification, repeatability, reproducibility, glucose, coefficient of variation.

RESUME: La vérification et validation d'une méthode est un préalable nécessaire avant toute activité dans un laboratoire de biologie médicale. Aussi, il est important de rappeler la maîtrise des risques liés à toute méthode de dosage ainsi que l'impact des conditions pré-analytiques sur l'étape post-analytique.

Ce travail a pour objectif d'évaluer les performances analytiques du dosage du glucose sérique et urinaire par la méthode enzymatique à l'hexokinase du fabricant Abbott sur automate Alinity du même fabricant.

Les paramètres vérifiés sont la reproductibilité et la répétabilité, au travers des résultats des contrôles internes de qualité récupérés en créant des procédures dans la rubrique dossier de validation/vérification de méthodes dans notre logiciel: Big.

Les résultats de l'évaluation des performances en termes de reproductibilité et de répétabilité démontrent une conformité parfaite de cette méthode, enzymatique à l'hexokinase, du dosage du glucose sérique et urinaire par le kit Abbott sur l'automate Alinity du même fabricant.

MOTS-CLEFS: vérification, répétabilité, reproductibilité, glucose, coefficient de variation.

1 INTRODUCTION

Le glucose est une molécule organique fondamentale et représente un substrat énergétique important dans l'organisme, surtout au niveau du cerveau humain où elle représente la principale et seule source énergétique. Son taux sérique est soumis à des variations importantes, qu'elles soient dues à l'apport alimentaire ou à la consommation par le métabolisme de base ou durant les activités physiques ou intellectuelles. Cependant, l'organisme possède un ensemble de moyens, nerveux et hormonaux, permettant de contenir les fluctuations de ce paramètre dans des limites physiologiques. Toute défaillance de ces moyens peut se manifester par un déséquilibre glycémique dont le diabète représente la principale conséquence et un problème majeur de santé publique à l'échelle mondiale.

Le dosage du glucose sanguin constitue de ce fait un examen biologique important et nécessaire au dépistage et au diagnostic de tout déséquilibre glycémique. De même, la détection de glucose urinaire renvoie à une glycémie veineuse supérieure à 2,5g/l, élément souvent nécessaire pour le diagnostic de certains tableaux en urgences ou au suivi du protocole thérapeutique lors du diabète. Les méthodes de ce dosage sont multiples, la plus répandue étant la méthode enzymatique. Celle-ci peut être réalisée grâce au système glucose oxydase/peroxydase, à l'hexokinase ou encore au glucose déshydrogénase. Ces méthodes enzymatiques sont les plus utilisées au vu de leur simplicité, fiabilité et sensibilité.

Ce travail a pour objectif d'évaluer les performances analytiques du dosage du glucose sérique et urinaire par la méthode enzymatique à l'hexokinase du fabricant Abbott sur automate Alinity du même fabricant.

2 MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les performances analytiques du kit de dosage du glucose sérique et urinaire par la méthode enzymatique à l'hexokinase est réalisée sur le module de « chimie » de l'automate Alinity du même fabricant Abbott. L'analyte d'intérêt est le glucose, le sérum et les urines représentent la matrice et les unités sont exprimées en gramme par litre (g/L).

Les paramètres vérifiés sont la reproductibilité et la répétabilité, au travers des résultats des contrôles internes de qualité.

Concernant la répétabilité, 20 valeurs par niveau de contrôle ont été utilisées aussi bien pour le dosage sérique qu'urinaire, tandis que pour la reproductibilité, ont été exploitées respectivement 61, 25 et 85 valeurs pour les niveaux bas, moyen et haut pour le dosage sérique et 20 valeurs par niveau pour le dosage urinaire. Au-delà de la comparaison avec les valeurs du fournisseur, nos résultats sont comparés à ceux des sociétés savantes SFBC (1) et RICOS (2).

3 RÉSULTATS

Les résultats de l'évaluation des performances en termes de reproductibilité et de répétabilité démontrent une conformité parfaite de cette méthode, enzymatique à l'hexokinase, du dosage du glucose sérique et sanguin par le kit Abbott sur l'automate Alinity du même fabricant.

Concernant la répétabilité et la reproductibilité, les coefficients de variation (CV) obtenus pour chaque niveau sont décrits dans les tableaux (annexes 1 et 2)

Tableau 1. Résultats de répétabilité du dosage sanguin par niveau avec comparaison aux données de la SFBC (avec coefficient d'élargissement $k = 1,26$)

Niveau de CIQ	Nombre de valeurs	Moyenne (en g/l)	Écart-type	Coefficient de variation CV (en %)	Coefficient de variation du fabricant CV (en %)	Coefficient de variation de référence (SFBC 1999)
Bas	20	0,51	0,004	0,72	Inférieur à 5	3,02
Moyen	20	1,25	0,012	0,95	Inférieur à 5	2,27
Haut	20	2,87	0,009	0,325	Inférieur à 5	1,51

Tableau 2. Résultats de reproductibilité du dosage sérique par niveau avec comparaison aux données de la SFBC et du RICOS

Niveau de CIQ	Nombre de valeurs	Moyenne (en g/l)	Écart-type	Coefficient de variation CV (en %)	Coefficient de variation du fabricant CV (en %)	Coefficient de variation de référence (SFBC 1999)	Coefficient de variation de référence (RICOS 2014)
Bas	61	0,51	0,009	1,74	Inférieur à 5	3,67	3,21
Moyen	85	1,22	0,013	1,03	Inférieur à 5	2,7	3,15
Haut	25	2,77	0,028	0,99	Inférieur à 5	1,97	3,45

Tableau 3. Résultats de répétabilité du dosage urinaire par niveau avec comparaison aux données de la SFBC (avec coefficient d'élargissement $k = 1,26$)

Niveau de CIQ	Nombre de valeurs	Moyenne (en g/l)	Écart-type	Coefficient de variation CV (en %)	Coefficient de variation du fabricant CV (en %)	Coefficient de variation de référence (SFBC 1999)
Bas	20	0,465	0,005	0,98	Inférieur à 6	5,67
Haut	20	2,65	0,025	0,93	Inférieur à 6	4,73

Tableau 4. Résultats de reproductibilité du dosage urinaire par niveau avec comparaison aux données de la SFBC

Niveau de CIQ	Nombre de valeurs	Moyenne (en g/l)	Écart-type	Coefficient de variation CV (en %)	Coefficient de variation du fabricant CV (en %)	Coefficient de variation de référence (SFBC 1999)
Bas	20	0,46	0,005	1,07	Inférieur à 6	6
Haut	20	2,55	0,026	1,02	Inférieur à 6	5

4 DISCUSSION

Les déséquilibres en matière de glucose sanguin regroupent un large éventail de manifestation, qu'il s'agisse de certains tableaux aigus urgents entraînant le pronostic vital tels que l'hypoglycémie, ou d'autres tableaux d'élévation chronique de la glycémie veineuse à la tête desquels figure le diabète. Le diabète constitue un problème de santé mondial. La fédération internationale de diabète confirme que celui-ci concerne 537 millions de cas à travers le monde en 2021, avec une mortalité liée au diabète ou à ses conséquences de 6,7 millions de décès durant cette même année. (3)

Ainsi, et dans un souci d'assurer une prise en charge optimale, aussi bien sur le plan diagnostique que suivi thérapeutique, il est primordial d'avoir recourt à une méthode de dosage du glucose sérique, qui soit précise et juste. Plusieurs méthodes de dosage du glucose sérique/urinaire avec des différences en termes de performances. La méthode chimique qui utilise de l'ortho-toluidine est une méthode abandonnée à cause de la toxicité de son réactif. De ce fait, seules les méthodes enzymatiques sont utilisées à l'heure actuelle. On compte la méthode enzymatique à la glucose oxydase/ peroxydase, celle à l'hexokinase et enfin celle à la glucose déshydrogénase. La technique... est la plus répandue au vu du faible coût qu'elle engendre (le coût étant un paramètre important à prendre en considération quand on sait qu'en 2019, la France comptait 4,5 millions de sujets diabétiques et qu'en moyenne la sécurité sociale dépensait 4500 euros annuellement par patient) tandis que celle à l'hexokinase est la plus performante.

Qu'il s'agisse d'une contrainte réglementaire (4) (au travers du GBEA marocain), d'une contrainte normative (norme ISO 15189 pour l'accréditation) (5) ou encore d'une contrainte morale et déontologique, la vérification et validation de chaque méthode d'analyse constitue un impératif dans tout laboratoire d'analyse de biologie médicale. Pour ce faire, des protocoles préétablis sont disponibles dans la littérature, détaillant les paramètres à vérifier (paramètres de la portée A) ainsi que les résultats escomptés et les valeurs limites d'acceptabilité ou de conformité selon les différentes sociétés savantes.

Dans notre étude, à défaut d’avoir les données du contrôles externes de la qualité nécessaires pour la vérification et validation de l’ensemble des éléments de la portée A, seules ont été vérifiées la répétabilité et la reproductibilité du dosage du glucose sanguin et urinaire par le kit dédié à cet effet et fabriqué par Abbott sur automate Alinity du même fabricant.

La répétabilité se définit comme étant l’étroitesse d’accord entre les résultats des mesurages successifs du même mesurande. Ces mesurages sont effectués dans les mêmes conditions. Elle est estimée par les paramètres d’évaluation de la dispersion à savoir l’écart-type (ET) et le coefficient de variation (CV) (1). Dans notre cas, la répétabilité de notre méthode de dosage du glucose sérique et urinaire s’est révélée conforme par ses performances en accord avec les données du fournisseur et en deçà des limites fixées par la SFBC 1999 telles que décrites dans les annexes 1 et 3.

Quant à la reproductibilité, celle-ci représente l’étroitesse d’accord entre le résultat des mesurages du même mesurande, les mesurages étant effectués en faisant varier les conditions de mesure. De même, son approche se fait au travers des paramètres d’évaluation de la dispersion: ET et CV (1). Les performances concernant notre méthode de mesure en terme de reproductibilité, exprimées en CV et ET, démontrent à leur tour une parfaite conformité de cette méthode par leur accord avec les données du fabricant et leur valeurs bien inférieures à celles préconisées par la SFBC 1999 et le RICOS 2014 (annexes 2 et 4).

Il est aussi important de rappeler tout l’intérêt des données du contrôle externe de la qualité (CEQ) dans la démarche de vérification et validation d’une méthode d’analyse dans un laboratoire de biochimie. Celles-ci permettent d’évaluer les performances du laboratoire par rapport à des groupes pairs utilisant la même méthode avec le même instrument, et aussi par rapport à des groupes, dits méthodes, utilisant d’autres méthodes de dosage. De plus, l’exploitation des données du CEQ permettent l’estimation de l’incertitude de mesure.

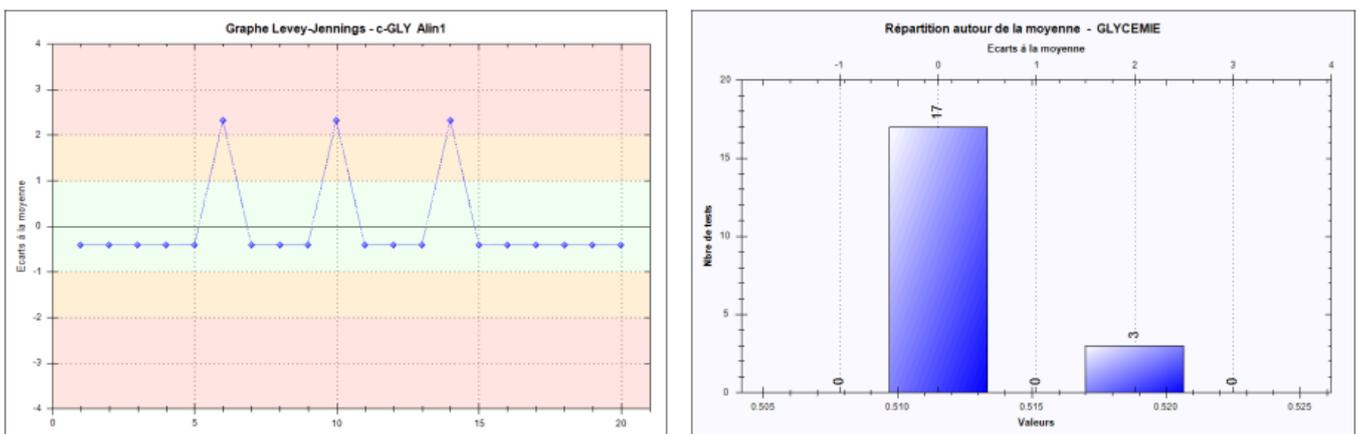


Fig. 1. La répétabilité du dosage sanguin du glucose du niveau bas de contrôle interne de qualité

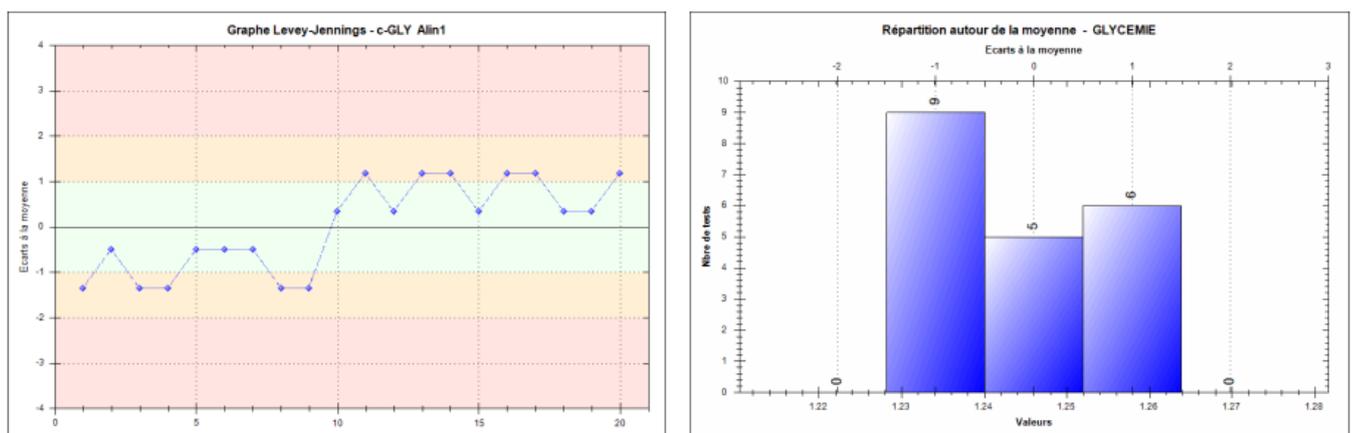


Fig. 2. La répétabilité du dosage sanguin du glucose du niveau moyen de contrôle interne de qualité

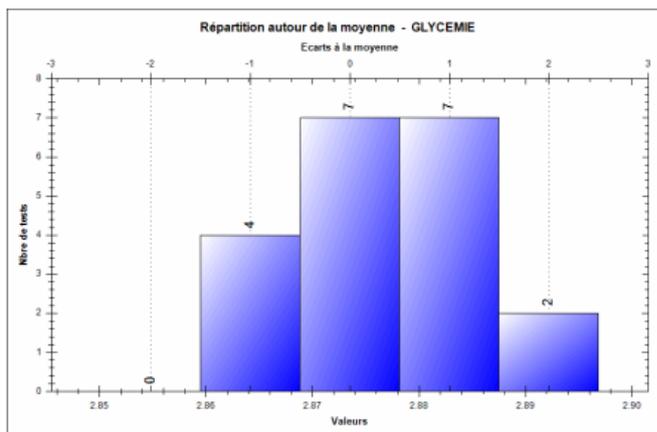


Fig. 3. La répétabilité du dosage sanguin du glucose du niveau haut de contrôle interne de qualité

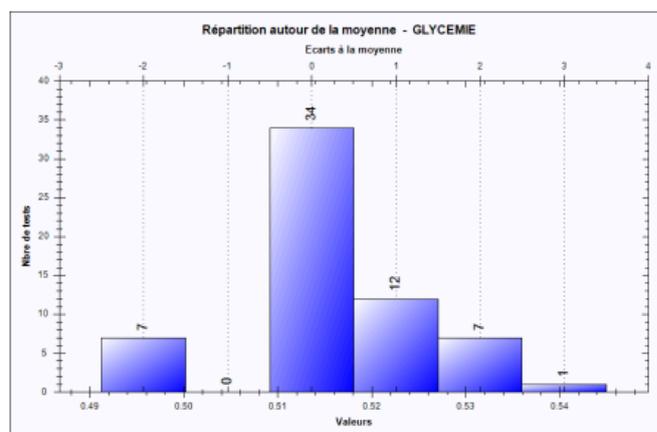
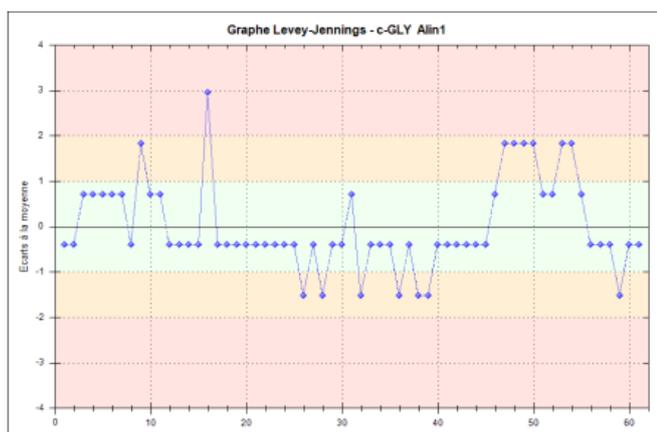


Fig. 4. La reproductibilité du dosage sanguin du glucose du niveau bas de contrôle interne de qualité

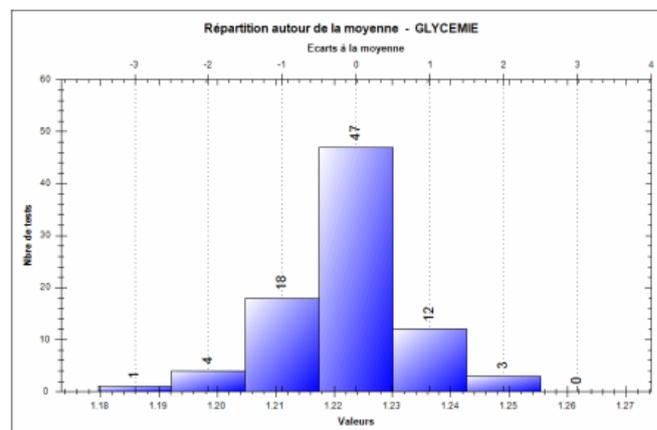
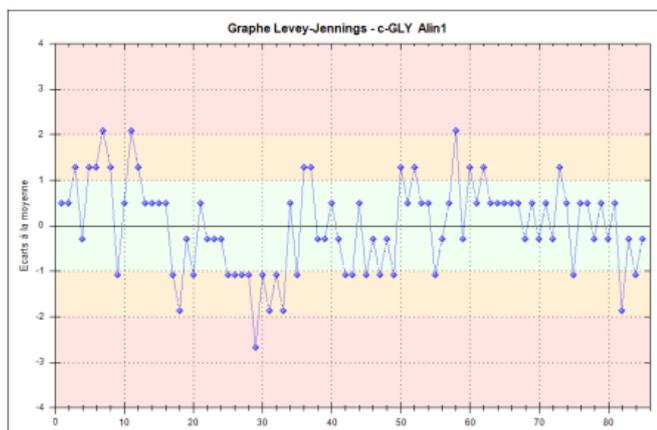


Fig. 5. La reproductibilité du dosage sanguin du glucose du niveau moyen de contrôle interne de qualité

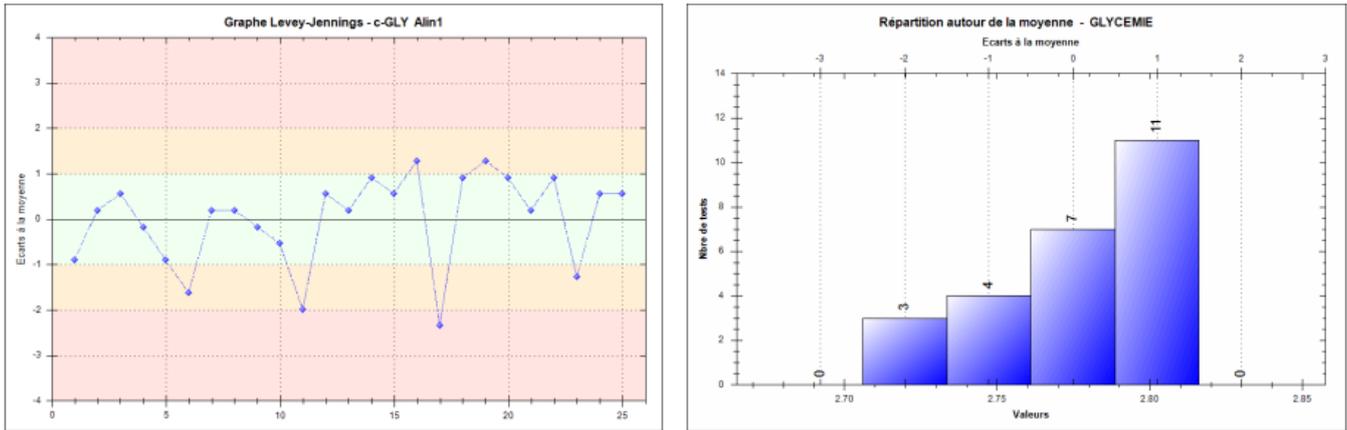


Fig. 6. La reproductibilité du dosage sanguin du glucose du niveau haut de contrôle interne de qualité

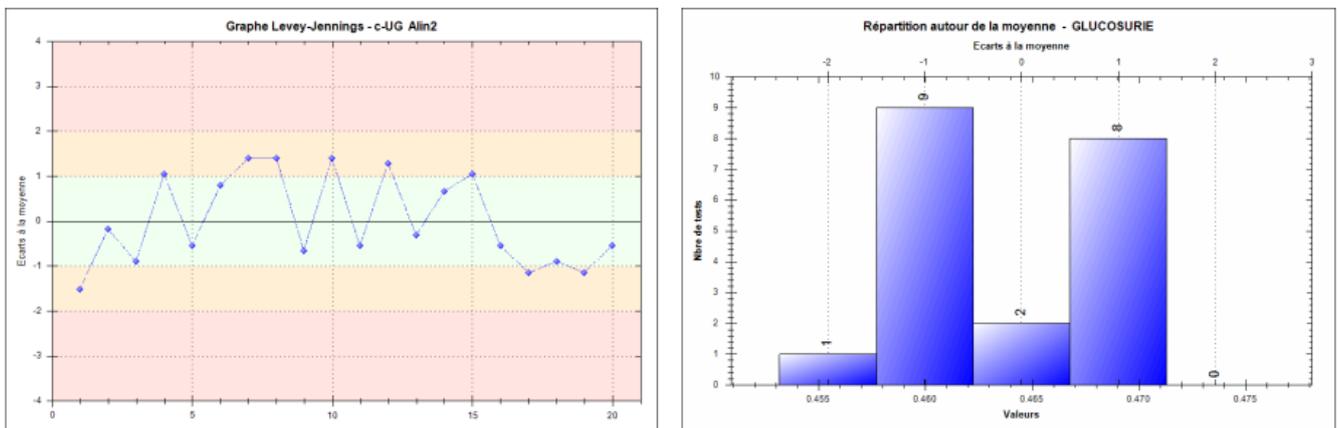


Fig. 7. La répétabilité du dosage urinaire du glucose du niveau bas de contrôle interne de qualité

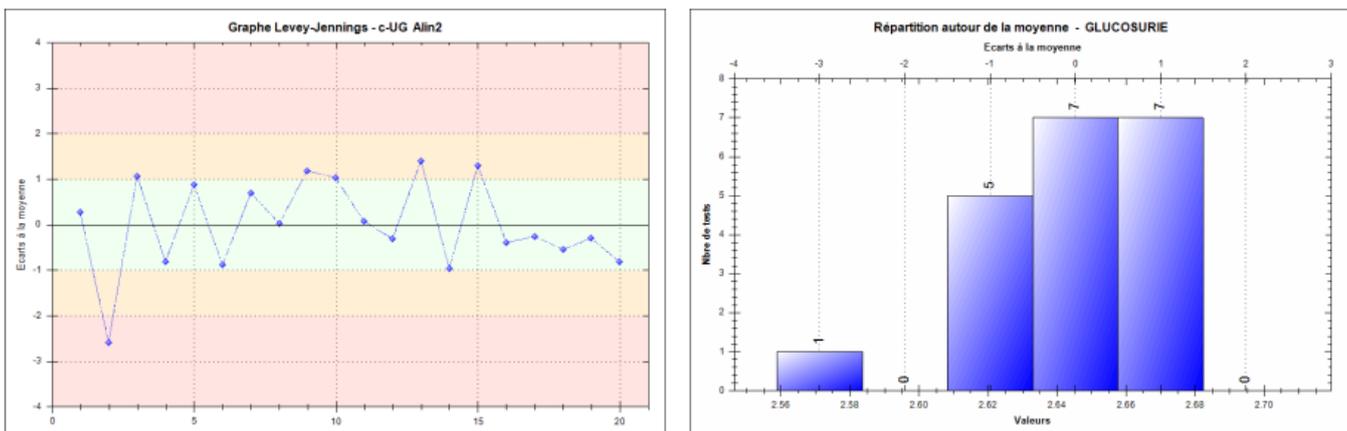


Fig. 8. La répétabilité du dosage urinaire du glucose du niveau haut de contrôle interne de qualité

5 CONCLUSION

La méthode de dosage du glucose sérique et urinaire, par la technique enzymatique à l'héxokinase du kit Abbott sur l'automate Alinity du même fabricant, répond parfaitement aux critères de performances requis par les sociétés savantes en termes de reproductibilité et répétabilité. Il demeure toutefois nécessaire de compléter l'évaluation de ces performances par

les données du CEQ et leur exploitation, et ce, dans une contrainte normative en vue d'une accréditation ultérieure. Aussi, et en parallèle à la maîtrise des performances, il est tout aussi important de maîtriser les risques liés à cette méthode dans notre laboratoire. Pour ce faire, plusieurs outils existent tels que le diagramme d'Ishikawa. Enfin certains paramètres sont aussi importants à cerner, tels que l'impact des conditions pré-analytiques sur les résultats délivrés par cette méthode, en sachant que, à titre d'exemple, le non-respect du jeun, le stress au moment du prélèvement ou encore le retard d'acheminement de celui-ci, impactent fortement l'étape post-analytique.

REFERENCES

- [1] Vassault A, Grafmeyer D, de Graeve J, Cohen R, Beaudonnet A, Bienvenu J. Analyses de biologie médicale : spécifications et normes d'acceptabilité à l'usage de la validation de techniques: 9.
- [2] Desirable Biological Variation Database specifications - Westgard [Internet]. [cité 20 févr 2022]. Disponible sur: <https://www.westgard.com/biodatabase1.htm>
- [3] Les chiffres du diabète [Internet]. Centre européen d'étude du Diabète. [cité 19 févr 2022]. Disponible sur: <http://ceed-diabete.org/fr/le-diabete/les-chiffres/>.
- [4] GBEA marocain [Internet]. [cité 20 févr 2022]. Disponible sur: http://www.sgg.gov.ma/Portals/0/profession_reglementee/Dec_2598.10_Fr.pdf
- [5] ISO 15189: 2012 (fr), Laboratoires de biologie médicale — Exigences concernant la qualité et la compétence [Internet]. [cité 20 févr 2022]. Disponible sur: <https://www.iso.org/obp/ui/#iso:std:iso:15189:ed-3:v2:fr>.