

ARTICLE ORIGINAL

Influence du type des tubes de collecte de sang sur le bilan thyroïdien

Effect of blood collection tube type on thyroid status

Ben Rejeb Nabila¹,
Doggui Radhouene²,
Gasmia Wiem¹,
Felfoul Henda¹,
Omezzine Asma¹,
Bousslama Ali¹

1 Laboratoire de biochimie,
CHU Sahloul de Sousse

2 Laboratoire de surveillance
et épidémiologie
nutritionnelles, Institut
national de nutrition et de
technologies alimentaires de
Tunis

Résumé

Le choix des tubes de prélèvement impacte directement la qualité des résultats d'analyses biochimiques. Certains composants des tubes peuvent interférer sur les immunodosages.

Nous avons choisi d'étudier l'influence de la nature de cinq tubes de prélèvement sans anticoagulants (tube en verre, tube en plastique, et trois tubes sous vide des marques : Vacutest®, BD® et SD®) sur les résultats de deux paramètres du bilan thyroïdien: la L-thyroxine libre et la thyroïdostimuline dosés par électrochimiluminescence sur l'analyseur Cobas e 411 (Roche Diagnostics). Notre étude compte trente adultes volontaires. le tube en verre est pris pour référence. L'écart moyen en pourcentage était calculé pour chaque hormone, dans chacun des cinq tubes et comparé à la limite de variabilité totale qui prend en considération les variabilités analytique et biologique intra-individuelle. Le diagramme de Bland- Altman n'avait montré aucune différence significative pour le dosage de la L-thyroxine libre et de la thyroïdostimuline sur le tube en verre versus les autres tubes. Les différences des résultats entre les différents tubes n'avaient pas de signification sur le plan clinique puisque l'écart moyen en pourcentage était toujours inférieur à la limite de variabilité totale.

Ainsi , les tubes de prélèvement : en verre, en plastique, Vacutest®, BD® et SD® ; peuvent être utilisés en vue du dosage de la FT4 et de la TSH.

Mots clés : Tubes de collecte de sang- interférence- impact clinique

Abstract

The choice of Blood collection tubes has a direct impact on the quality of biochemical test results. Some components of the tubes may interfere with immunoassays. We have chosen to study the influence of the nature of five tubes without anticoagulants (a glass tube, a plastic tube, and three vacutainer tubes: Vacutest® , BD® and SD®) on the results of two parameters of thyroid status: free thyroxin and thyroid stimulating hormone measured by electrochemiluminescence on the Cobas e 411 analyzer (Roche Diagnostics). Our study has thirty adult volunteers. The glass tube is inert that is why we took it for reference. The mean percentage deviation was calculated for each hormone in each of the five tubes and compared to the total change limit that takes into account analytical and intra-individual imprecisions.

The Bland-Altman plot showed no significant difference for the determination of free L-thyroxine and thyroid stimulating hormone on the glass tube versus the other tubes.

Variation in serum. thyroid stimulating hormone as well as in free thyroxin concentrations , between the different tubes had no clinical significance since the mean percentage deviation was always lower than the total change limit.

Thus, glass, plastic, Vacutest®, BD® and SD® blood collection tubes without anticoagulants; can be used for the determination of free thyroxin and thyroid stimulating hormone.

Key words : Blood collection specimen- interferences- health care

Introduction

Dans un laboratoire d'analyses médicales, la phase pré-analytique, représente 57 % du temps nécessaire à l'analyse (20 % hors laboratoire et 37 % dans le laboratoire), et elle est à l'origine de 50 à 75% des erreurs et des dysfonctionnements qui affectent les résultats d'analyses [1]. La phase pré-analytique inclut plusieurs procédures extra- et intra-laboratoires telles que le choix du tube destiné à recevoir le prélèvement qui impacte directement la qualité des résultats. En effet, les tubes de prélèvement peuvent occasionner des interférences sur les dosages biochimiques dont la détection représente un vrai défi car elles ne sont pas repérées par le contrôle de qualité.

Les effets de différents tubes de prélèvement sur les biomarqueurs ont été rapportés [2]. Les tubes ont plusieurs composants comme la silicone qui peuvent influencer la formation du caillot, libérer certains matériaux dans le sang ou encore adsorber certains analytes à partir de celui-ci [3]. Tous ces facteurs lorsqu'ils ne sont ni identifiés, ni maîtrisés, peuvent modifier le résultat final dont l'interprétation se trouve erronée.

Les tubes de prélèvement ont beaucoup évolué depuis les tubes en verre jusqu'aux tubes sous vide fabriqués par *Becton Dickinson®* pour la biochimie clinique en 1946 [3]. Plusieurs tubes sous vide sont parus depuis, variant selon la nature des composants. Les fournisseurs ont rajouté aux tubes en plastique, des particules de silice pour entraîner l'activation de la coagulation du sang et du polyvinylpyrrolidone [4] pour favoriser l'adhésion des particules de silice aux parois des tubes ainsi que pour favoriser la dissolution rapide de la silice dans l'échantillon sanguin. De plus, les fournisseurs rajoutent des tensioactifs à base de silicone ou d'oxyde de polypropylène comme revêtement intérieur du tube [5]

pour minimiser l'adsorption des hématies aux parois.

Cependant le tube en verre demeure la référence car étanche à l'air, imperméable à l'eau et résistant à la chaleur. Avant d'introduire de nouveaux types de tubes de prélèvement dans le laboratoire, il convient de les valider. Les dosages hormonaux thyroïdiens présentent des difficultés d'interprétation de par les multiples interférences d'ordre physiopathologique, médicamenteuses ou encore analytiques. Nous avons étudié l'interférence de la nature du tube de prélèvement sur les résultats de deux paramètres du bilan thyroïdien: la L-thyroxine libre (FT4) et la thyroïdostimuline (TSH). Pour cela, nous avons étudié la précision, comparé les résultats des deux hormones dans les différents tubes de prélèvement par rapport à ceux dans le tube en verre et étudié l'impact clinique des variations constatées.

Matériel et méthodes

Echantillonnage

Trente personnes adultes, volontaires, ont participé à notre étude. Pour chacune des personnes, nous avons recueilli du sang veineux dans cinq tubes sans anticoagulants : un tube en verre, un tube en plastique, et trois tubes sous vide des marques : Vacutest®, BD® et SD®. Les tubes sous vide (BD®, SD®, Vacutest®) ont été remplis de sang jusqu'au trait indiqué par le fournisseur tandis que les tubes en verre et en plastic ont été remplis à environ 3.5 mL de sang. Une aiguille (TOTAL SAFETY ®) de calibre 21, a été utilisée pour le prélèvement, et aucun dispositif de prélèvement particulier n'a été utilisé pour les tubes sous vide. Pour tous les tubes, les bouchons ont été simplement ôtés, le sang directement recueilli depuis l'aiguille dans les tubes correspondants. Les caractéristiques des tubes sont regroupées dans le tableau 1.

Tableau 1. Caractéristiques des tubes de prélèvement

| | Référence | Désignation | Dimension | Activateur de coagulation |
|---|-----------|--------------------------------|------------|----------------------------|
| Tube en verre borosilicaté | 2023-08 | SBS industriels | 12x75 mm | Non |
| Tube en polystyrène | 1002 | Biosphere Biological Technics- | 13 x 75 mm | Non |
| Tube sous vide en polyéthylène téréphtalate | 11010 | Vacutest ® | 13x75 mm | Oui (particules de silice) |
| Tube sous vide en polyéthylène téréphtalate avec revêtement en silicone | 369032 | BD Vacutainer® | 13x75 mm | Oui (particules de silice) |
| Tube sous vide | XLGA-NR4 | SD® | 13x75 mm - | Oui (de nature inconnue) |

Soixante minutes après le prélèvement, les tubes ont été centrifugés (3000 tours/minute pendant 5 minutes). Les échantillons étaient exempts des interférences telle que l'hémolyse, l'ictère, et l'hyperlipémie. Cette vérification était assurée par le test photométrique pour la détermination semi-quantitative de la lipémie/turbidité, de l'ictère et de l'hémolyse (LIH) dans le sérum sur l'analyseur AU 680 de Beckman Coulter. Pour chaque sujet, les dosages ont été effectués dans les différents tubes, le même jour du prélèvement, dans la même série et dans les mêmes conditions. Tous les dosages ont été effectués dans les tubes primaires et les tubes ont été conservés à température ambiante et en position verticale.

Méthodes de dosage

Les dosages ont été réalisés par électrochimiluminescence « ECLIA » sur l'auto-analyseur Cobas e 411 (Roche Diagnostics, Tokyo, Japon) en utilisant les coffrets de réactifs spécifiques correspondants.

Etude de la répétabilité

Pour l'étude de la répétabilité, nous avons utilisé les sérums des participants. Nous avons quantifié chaque paramètre, 15 fois de suite dans la même série dans chaque catégorie de tubes. Les seuils limite de précision retenus pour le dosage de la FT4 (7,5 %) et la TSH (5,3 %) sont ceux de la société française de biologie clinique (SFBC) [6].

Comparaison des résultats de dosages hormonaux des différents tubes versus le tube en verre

La comparaison des résultats de quantification des deux paramètres a été opérée sur les 30 échantillons biologiques. Les moyennes des résultats (Mx) ont été calculées à partir des 30 échantillons, pour chaque hormone et dans chaque tube. L'écart moyen en pourcentage (EMP) par rapport au tube de référence (tube en verre) a été calculé pour chaque paramètre, dans chaque tube selon la formule suivante : $EMP = [(Mx - M0)/M0] \times 100$. (Mx: moyenne de résultats dans les tubes de prélèvement autres que le tube en verre, M0 : moyenne des résultats dans le tube en verre).

L'EMP déterminé est considéré acceptable s'il est inférieur ou égal à la limite de variabilité totale (TCL) [7] qui prend en considération les variabilités analytique et biologique intra-individuelle. L'EMP est inacceptable et aura un impact clinique s'il excède le TCL.

$$TCL = [(2,77 \times CVa)^2 + (0,5 \times CVb)^2]^{1/2}$$

Les coefficients de variation analytiques (CVa) ont été calculés à partir des résultats du contrôle interne (Precicontrol universel® pour les contrôles TSH et FT4, REF 11731416-190 ; lot 177813) relevés sur une période de deux mois).

Les coefficients de variations biologiques intra-individuelles (CVb) ont été relevés à partir de la table publiée par Carmen Ricos [8].

Analyse statistique

L'étude statistique a été réalisée par le logiciel SPSS (V.17) et Medcalc® 14.1. Les moyennes ± écarts type ainsi que les coefficients de variation (CV %) ont été déterminés pour chaque paramètre pour l'étude de la répétabilité.

Les valeurs déterminées à partir du prélèvement réalisé sur le tube en verre ont été considérées comme valeurs de référence.

La détection de biais systémique et/ou proportionnel a été réalisée moyennant le test de Passing-Bablok.

La différence moyenne a été estimée par le test de Bland-Altman. Ces deux tests sont pratiqués de manière complémentaire, mais en cas de résultats conflictuels, c'est au Passing-bablok qu'on se réfère. Le risque de première espèce alpha a été fixé à 5 %.

Résultats

Répétabilité du dosage de la FT4, et de la TSH

Les résultats de répétabilité sont rapportés dans le tableau 2. Les CV fluctuaient entre 0,76 % (Tube BD®) et 4,1 % (tube plastique) pour la FT4 et entre 0,47% (tube plastique) et 12,86% (tube Vacutest®) pour la TSH.

Comparaison des résultats de dosages hormonaux des différents tubes versus le tube en verre

La régression de Passing-Bablok n'a pas révélé de biais systémique par rapport au tube sec pour les dosages de la FT4 et de la TSH sur les différents tubes. Un biais proportionnel a été mis en évidence pour le dosage de la FT4 lorsqu'il a été réalisé sur les tubes de la marque Vacutest®. Le diagramme de Bland-Altman n'a montré aucune différence significative pour le dosage de la FT4 et de la TSH sur le tube en verre Vs. les autres tubes (Tableau 3).

Tableau 2. Etude de la répétabilité du dosage de la T4 libre et de la TSH en fonction du tube de prélèvement (n = 15)

| | Tube en verre | Tube en plastique | Tube BD® | Tube Vacutest® | Tube SD® |
|---------------------|---------------|-------------------|----------|----------------|----------|
| FT4 (pmol/L) | | | | | |
| Moyenne | 11,67 | 11,67 | 11,86 | 11,68 | 11,89 |
| Ecart-type | 0,12 | 0,47 | 0,09 | 0,16 | 0,10 |
| CV (%) | 1,10 | 4,09 | 0,76 | 1,38 | 0,89 |
| TSH (µUI/mL) | | | | | |
| Moyenne | 2,62 | 2,60 | 2,53 | 2,41 | 2,59 |
| Ecart-type | 0,03 | 0,012 | 0,14 | 0,31 | 0,05 |
| CV (%) | 1,23 | 0,47 | 5,81 | 12,86 | 2,21 |

CV : Coefficient de variation

Tableau 3. Comparaison entre les tubes testés et le tube référence (sec verre) pour les paramètres du bilan thyroïdien

| Paramètre testé | Paire de comparaison | Valeur moyenne ±Ecart-type | Régression Passing-Bablok | | | | | | Diagramme Bland-Altman | |
|-----------------|----------------------|----------------------------|-------------------------------|---------------------|--------------------------------|--------------------|-----------------------------|---------------------------------|-------------------------|--|
| | | | Pente [IC à 95%] ² | Biais proportionnel | Ordonné à l'origine [IC à 95%] | Biais systématique | Déviat. standard résiduelle | Différence moyenne ³ | Valeur de p | |
| FT4 | 1SD Vacutainer | 17,46±4,96 | 1,01 [0,99 à 1,03] | Absence | -0,18 [-0,68 à 0,08] | Absence | 0,18 [-0,36 à 0,36] | 0,00 | 0,921 | |
| | Vacutest | 17,51±4,91 | 1,02 [1,01 à 1,05] | Absence | -0,52 [-1,09 à -0,08] | Présence | 0,18 [-0,35 à 0,35] | -0,04 | 0,382 | |
| | Tube en Plastique | 17,49±4,93 | 1,02 [0,99 à 1,05] | Absence | -0,35 [-0,98 à 0,04] | Absence | 0,22 [-0,43 à 0,43] | -0,02 | 0,727 | |
| | BD Vacutainer | 17,8±5,56 | 1,01 [0,98 à 1,05] | Absence | -0,19 [-0,94 à 0,20] | Absence | 1,27 [-2,49 à 2,49] | -0,3 | 0,259 | |
| TSH | 1SD Vacutainer | 2,41±1,36 | 1,00 [0,99 à 1,01] | Absence | 0,01 [-0,02 à 0,02] | Absence | 0,12 | 0,05 | 0,162 [-0,25 à 0,25] | |
| | Vacutest | 2,44±1,38 | 1,00 [0,98 à 1,01] | Absence | 0,01 [-0,01 à 0,03] | Absence | 0,04 [-0,07 à 0,07] | 0,02 | 0,093 | |
| | Tube en Plastique | 2,43±1,32 | 1,00 [0,98 à 1,01] | Absence | 0,01 [-0,02 à 0,03] | Absence | 0,17 [-0,34 à 0,34] | 0,03 | 0,484 | |
| | BD Vacutainer | 2,43±1,37 | 0,99 [0,97 à 1,02] | Absence | 0,01 [-0,03 à 0,03] | Absence | 0,11 [-0,23 à 0,23] | 0,03 | 0,337 | |

1 Le tube de référence pris dans cette étude est le tube en verre.[FT4(pmol/L) : valeur moyenne/Ecart-type : 17,47/5,01] ; [TSH(μUI/mL) : valeur moyenne/Ecart-type : 2,46/1,38]

2 Intervalle de confiance à 95%

3 Sur l'axe des ordonnées (Valeurs observées sur le tube en verre – valeurs observées sur un autre tube).

Notre étude a montré que l'EMP était inférieure à la TLC pour tous les types de tubes aussi bien pour la T4 libre que pour la TSH (Tableau 4).

Tableau 4. Valeurs de l'écart moyen en pourcentage (EMP) par rapport à la limite de variabilité totale (TCL) des différents tubes de dosage versus le tube en verre

| | CVa (%) | CVb(%) | TCL (%) | EMP (%) | | | |
|-----|---------|--------|---------|--------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------|
| | | | | Tube SD® (N=30) | Tube Vacutest® (N=30) | Tube Plastique (N=30) | Tube BD® (N=30) |
| FT4 | 1,99 | 5,7 | ± 6,20 | -0,057 | 0,228 | 0,114 | 1,888 |
| TSH | 2,84 | 19,3 | ±12,45 | -2,03 | -0,81 | -1,21 | -1,21 |

CVa : Coefficient de variation analytique ; CVb : coefficient de variation biologique intra-individuelle, EMP : écart moyen en pourcentage ; FT4 : Thyroxine libre ; TSH, Thyréostimuline.

Discussion

Dans notre travail, nous avons étudié l'influence de la nature des tubes de prélèvement sur les valeurs des deux paramètres les plus demandés du bilan thyroïdien (la FT4 et la TSH) sur l'auto-analyseur Cobas e 411 (Roche Diagnostics), une influence dont la révélation échappe aux contrôles interne et externe. Le tube en verre a été considéré comme étant le tube de référence (ne contient ni activateur de coagulation ni aucun revêtement interne).

Pour l'ensemble des tubes, la précision était en adéquation avec les recommandations de la SFBC [6]. Pour le dosage de la TSH, les CVs étaient acceptables pour les tubes en verre, en plastique et SD®. Tandis que les CVs obtenus avec les tubes BD® et Vacutest ® étaient respectivement légèrement supérieurs à la limite tolérable (5,81 vs 5,3%) avec le premier et augmentée pour le second (12,86 Vs 5.3%).

La FT4 ne semble pas être influencée par la nature des tubes testés. Cependant, un écart a été décelé pour la FT4 déterminée sur les tubes Vacutest ® versus les tubes en verre. Cette différence n'a pas de signification particulière sur le plan clinique, elle est inférieure à la limite de variabilité totale (EMP = 0.228 qui est inférieure à TCL= ±6.20 %).

Quant aux résultats de TSH entre les différents tubes, nous

n'avons relevé aucun biais significatif moyennant la régression linéaire de Passing- Bablok. Les résultats sur les différents tubes étaient tous diminués par rapport à ceux du tube en verre. Toutefois cette diminution n'était pas significative et n'a aucun impact clinique. Les EMP avec tous les tubes étaient inférieurs à la limite de variabilité totale.

Dans le cas des immunodosages, la silicone peut interférer de manière non spécifique, en dissociant les anticorps de la phase solide [5]. Wickus et al [9] ont rapporté une interférence négative de la silicone sur le dosage de la TSH, et ce ci en agissant au niveau de l'étape de liaison biotine-avidine: La quantité de silicone, variable d'un tube à un autre pourrait expliquer la variabilité des écarts moyens des résultats de TSH selon la nature du tube par rapport au tube en verre.

Pour se rendre compte de l'interférence des tubes de prélèvement sur les dosages, il faudra penser à traiter les échantillons de contrôle de la même façon que les échantillons des patients et les transvaser avant analyse dans les mêmes tubes de recueil de ces derniers. La comparaison entre les résultats des contrôles ayant été en contact avec les tubes de collecte de sang avec ceux ne l'ayant jamais été, permettra de nous rendre compte des interférences des différents additifs.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Plebani M, Sciacovelli L, Aite A, Chiozza ML. Harmonization of pre-analytical quality indicators . Biochim Med. 2014;24(1):105-113.
2. Smets EM, Dijkstra-Lagemaat JE, Blankenstein MA. Influence of blood collection in plastic vs. glass evacuated serum-separator tubes on hormone and tumour marker levels.Clin Chem Lab Med. 2004;42(4):435-9.
3. Bowen RA, Hortin GL, Csako G, Otanez OH, Remaley AT. Impact of blood collection devices on clinical chemistry assays. Clin Biochem. 2010;43(1-2): 4-25.
4. Becton Dickinson and Co. Additive preparation and method of use thereof. Cohen RR Dastane AN, inventors. Patent number : US 6,225,123 B1; 2001.
5. Bowen RA, Chan Y, Ruddel ME, Hortin GL, Csako G, Demosky SJ Jr et al. Immunoassay Interference by a Commonly Used Blood Collection Tube Additive, the Organosilicone Surfactant Silwet L-720 .Clin Chem. 2005;51(10):1874-82.
6. Vassault A ,Grafnever 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. Ann Biol Clin. 1999;57:685-95.
7. Oddoze C, Lombard E, Portugal H. Stability study of 81 analytes in human whole blood, in serum and in plasma. Clin Biochem. 2012;45:464-69.
8. Ricos C, Alvarez V, Cava F, Garcia-Lario JV, Hernandez A, Jimenez CV et al. (2014) Desirable specifications for total error, imprecision, and bias, derived from intra- and inter-individual biologic variation. <http://www.westgard.com/biodatabase1.htm>. date d'accès 07/04/2018).
9. Wickus GG, Mordan RJ, Matheus EA. Interference in the allégro immunoassay system when blood is collected in silicone-coated tubes. Clin Chem. 1992 ; 38 : 2347-8.