

ETUDE MULTICENTRIQUE DU DOSAGE AUTOMATISE DE L'ETHANOLEMIE PAR VOIE ENZYMATIQUE

H. Malandain ¹ (*coordinateur*), J.H. Bourdon ², Y. Cano ¹, B. Capolaghi ³, P. David ⁴, G. Lachâtre ⁵, Ch. Lacroix ⁶, D. Lamiable ⁷, G. Lardet ⁸, I. Lenormand ⁹, P. Levillain ¹⁰, J. Pollet¹¹, S. Verchain ¹² et F. Vincent ¹³

(Commission Toxicologie Hospitalière de la S.F.T.A.)

- 1- Laboratoire de Biochimie - Centre Hospitalier - 56000 Vannes
- 2- Centre Anti-Poisons - 13274 Marseille
- 3- Laboratoire de Biochimie - Centre Hospitalier - 57100 Thionville
- 4- Laboratoire de Biochimie - Hôtel Dieu - 75181 Paris
- 5- Laboratoire de Pharmacologie-Toxicologie - Hôpital Dupuytren - 87042 Limoges
- 6- Laboratoire de Pharmacologie-Toxicologie - Centre Hospitalier - 76083 Le Havre
- 7- Laboratoire de Pharmacologie-Toxicologie - Hôpital Maison-Blanche - 51092 Reims
- 8 - Laboratoire de Biochimie D - Hôpital E. Herriot - 69437 Lyon
- 9- Laboratoire des Services de Réanimation (Dr. A. Feuillu) - Hôpital Pontchaillou - 35033 Rennes
- 10- Laboratoire de Toxicologie - Hôpital Fernand-Widal - 75475 Paris
- 11- Laboratoire de Biologie - Centre Hospitalier - 91410 Dourdan
- 12- Laboratoire de Biochimie (Dr. A. Gruson) - Centre Hospitalier - 62022 Arras
- 13- Laboratoire de Pharmacologie - Centre Hospitalier Universitaire - 38043 Grenoble

Tirés-à-part : Henri Malandain - Laboratoire de Biochimie - Centre Hospitalier Chubert - BP 555 - 56017 Vannes cedex

Résumé :

ETUDE MULTICENTRIQUE DU DOSAGE AUTOMATISE DE L'ETHANOLEMIE PAR VOIE ENZYMATIQUE

Treize laboratoires ont comparé 10 trousse commercialisées en France pour la mesure de l'éthanol. Chaque trousse a été évaluée dans 2 sites. L'étude a testé 8 critères analytiques, soit sur des solutions aqueuses (linéarité, précision intra- et inter-séries, limite de détection, stabilité de la calibration et spécificité) soit sur des plasmas (exactitude et effet de la matrice). Les résultats font ressortir de grandes différences entre les kits, principalement pour la précision (les CV inter-séries vont de 1,2 à 12,3% pour un point à 0,5 g/l d'éthanol) et pour la spécificité (interférence du méthanol avec un kit utilisant l'alcool oxydase ; effet non négligeable de l'isopropanol sur certaines trousse utilisant l'ADH ; faux-positifs avec une trousse en présence de lactate et de LDH). Ces critères analytiques ont été combinés avec des critères de coût et de praticabilité (stabilité de l'étalonnage, réactifs prêts à l'emploi, etc..) en une présentation graphique permettant une comparaison visuelle globale entre les kits.

Mots-clés : Ethanol / Comparaison de méthodes / Interférences analytiques / Etude multicentrique

Summary :

Multicenter Study of Automated Methods for Serum Ethanol Enzymatic Assay

Thirteen laboratories compared 10 ethanol kits available in France. Each kit was evaluated in two different sites. The study checked 8 analytical criteria, either with aqueous samples (linearity, within-run precision, day-to-day precision, detection limit, calibration stability, and specificity), or with plasma samples (accuracy and matrix effects). The results obtained underlined large differences among the kits, notably for precision (day-to-day CV of 1.2% to 12.3% at 0.5 g/l ethanol) and specificity (interference of methanol with an alcohol oxidase-based kit ; a measurable effect of isopropanol for some ADH-based kits ; and false-positive results with a kit in the presence of lactate and LDH). These analytical criteria were finally combined with practical ones (cost, reagent stability, ease-to-use) to construct a graphical global comparison between kits.

Key-words : Alcohol, ethyl / Method comparison / Analytical interferences / Multicenter study

Quand la mesure de l'éthanol sanguin n'est pas effectuée dans un cadre médico-légal, une méthode enzymatique est d'usage courant dans les laboratoires hospitaliers, notamment ceux qui, n'étant pas spécialisés en pharmacologie-toxicologie, ne sont pas équipés en chromatographie gazeuse.

Une mesure automatisée directe sur plasma est alors préférée à une méthode manuelle après déprotéinisation dans le but de répondre rapidement à la demande, tant le jour que la nuit.

Si une quinzaine de trousse sont commercialisées en France pour cet usage, il n'existe que peu de travaux évaluant ces trousse et leurs résultats sont soit trop anciens (1), soit n'abordent que la précision (2), ou la comparaison inter-laboratoires (3). Et le dernier Contrôle de Qualité organisé en France remonte à 1989 !.. (4).

Devant ce manque de données récentes, la Commission Toxicologie Hospitalière de la S.F.T.A. a donc décidé d'organiser une évaluation multicentrique des coffrets automatisés du dosage enzymatique de l'éthanol.

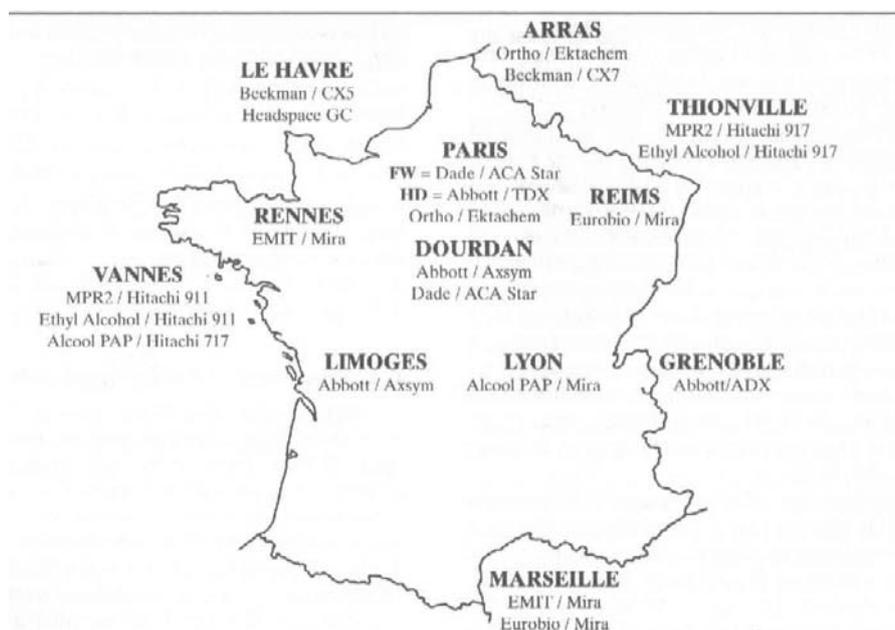
Matériels et méthodes

Principes généraux de l'étude:

- 1)- l'étude a concerné les trousse commercialisées en 1996 et permettant une mesure directe de l'éthanol plasmatique sur un automate d'analyse;
- 2) - chaque trousse a été testée dans 2 sites différents; les préconisations du fournisseur quant à la préparation et à la conservation des réactifs et étalons ont été suivies par chaque site; il en a été de même pour la paramétrisation de l'automate concerné
- 3) - les automates utilisés par les sites évaluateurs étaient en situation de routine et produisaient donc aussi, pendant l'étude, des résultats pour des patients.
- 4) - enfin, une rigueur maximale a été recherchée par la distribution des mêmes solutions-tests et plasmas à tous les sites et par la simultanéité de la mise en oeuvre du protocole à travers tous les sites.

Les sites d'évaluation et les trousse évaluées :

Le principe de cette étude a été proposé à l'ensemble des fournisseurs en France de trousse mesurant l'éthanol par voie enzymatique. Parmi eux, 9 ont accepté d'entrer dans l'étude comparative qui a donc initialement inclus 11 trousse. La société SIGMA Diagnostics s'étant retirée de la comparaison pendant le déroulement du protocole, les résultats présentés ici concernent donc 10 trousse. La figure ci-dessous montre la répartition de ces trousse sur les 13 sites d'évaluation ainsi que les automates utilisés. Les appareils ADX et TDX utilisant les mêmes réactifs ont été, en accord avec la société Abbott, groupés pour l'étude.



Deux principes réactionnels sont mis en oeuvre par ces trousse:

1)- la trousse Alcool-PAP BioMérieux (ref. 61891) fait appel à une alcool oxydase couplée à une base Trinder avec détection à 500 nm;

2)- une alcool déshydrogénase et la conversion du NAD en NADH sont utilisées par toutes les autres trousse, à savoir (par ordre alphabétique): ACA Dade (ref. 75-14041), ADX/TDX Abbott (ref. 9545-77), Axsym Abbott (ref. 9545-60), CX Beckman (ref. 445 900), Ektachem Vitros Ortho (ref. 804 6872), EMIT Behring (ref. 9K 219), Ethyl Alcohol Boehringer (ref. 177 6312), MPR2 Boehringer (ref. 123 960) et Seratest Eurobio (ref. 909 341). Hormis les trousse ADX/TDX (atténuation de fluorescence) et Ektachem (réflectométrie), les autres trousse suivent la variation d'absorbance à 340 nm.

Déroulement du protocole:

- - du **21 mai au 4 juin 1996** a été effectuée l'étude de la **stabilité de l'étalonnage** : après un étalonnage initial, une solution dépourvue d'éthanol et un standard à 1 g/l d'éthanol (les deux dans NaCl 9 g/l) ont été testés à +2h, +4h, +8h, +1j, +3j, +7j et +14j. L'étalonnage a été considéré stable tant que la réponse ne déviait pas de plus de 0,05 g/l par rapport à la valeur attendue, sur un quelconque de ces 2 points.
- - entre le **10 et le 21 juin 1996**, 10 séries de mesures ont eu lieu, chacune respectant les conclusions de l'étude ci-dessus quant au besoin ou non de recalibrer (voire de renouveler) le réactif:
 - étude de la **reproductibilité** par le passage en double, lors de chaque série (chaque jour), de standards d'éthanol à 0,5 et à 2 g/l (dans NaCl 9 g/l);
 - étude de la **répétabilité** par le passage itératif, 20 fois dans une même série, d'un standard d'éthanol à 0,5 g/l, 1 g/l ou 2 g/l (dans NaCl 9 g/l);
 - étude de la **limite supérieure de linéarité** par le passage en triple d'une gamme de standards à 0,5 , 1, 2, 3 et 4 g/l (dans NaCl 9 g/l); la linéarité était jugée acceptable quand la moyenne de ces triplets déviait de moins de 5% par rapport à la valeur attendue;
 - étude de la **limite de détection** par le passage itératif, 10 fois dans la même série, d'un point dépourvu d'éthanol (NaCl 9 g/l); la limite de détection a été calculée comme la moyenne plus 3 écarts-types des résultats obtenus;
 - étude de **l'exactitude** par l'analyse de 36 plasmas différents en comparaison avec une technique en chromatographie gazeuse sur espace de tête (cf. ci-après);
 - étude de **l'interférence d'autres alcools, aldéhydes, cétones ou acides**: deux séries de solutions à 100 mmol/l (dans NaCl 9g/l) de l'interférent ont été testées, l'une dépourvue d'éthanol, l'autre contenant simultanément 20 mmol/l d'éthanol (soit 0,92 g/l). Les molécules suivantes ont été testées: méthanol, 1-propanol, 1-butanol, 1-pentanol, isopropanol, éthylène glycol, propylène glycol, glycérol, méthyl-glycol, ethyl-glycol, butyl-glycol, 2,3-butanediol, acétaldéhyde, acétone, méthyl-éthyl-cétone, méthyl-isobutyl-cétone, cyclohexanone, acide formique, acide glycolique, acide lactique, acide acéto-acétique et acide béta-hydroxy butyrique;
 - **l'influence** d'une quantité importante d'hémoglobine (**hémolyse**), de bilirubine (**ictère**) ou de lipoprotéines (lactescence) dans le plasma a été étudiée en testant, en l'absence ou en présence de 2 g/l d'éthanol, des serums commerciaux contenant 330 mg/l d'hémoglobine (Sigma H 4268), 320 mg/l de bilirubine (Sigma B 8777) ou 12,7 g/l de triglycérides (Sigma L 2648).

Méthode CPG-HS :

Le site du Havre (Ch. Lacroix) a réalisé l'analyse en CPG-HS (Varian Genesis) des plasmas et des standards et étalons utilisés dans l'étude. L'espace de tête a été obtenu après chauffage 15 min à 60°C d'une dilution du prélèvement au 1/50 dans du NaCl 30 g/l contenant le standard interne (1-propanol). La séparation a eu lieu sur une colonne DB-Wax 30m 1µ avec un gradient de 50 à 75 °C. La calibration a été réalisée avec un étalon certifié (Promochem A14-02).

Constitution des standards et plasmas :

Le site de Vannes a poolé des plasmas (sur NaF) issus de l'activité normale hospitalière afin de constituer une gamme de concentrations d'éthanol de 0 à 5 g/l. Ces pools ont été répartis en flacons de 2 ml étanches (Chromacol) puis envoyés réfrigérés en express à tous les sites le même jour. Certains plasmas ont été additionnés d'un possible interférent: 50 mmol/l d'éthylène glycol, de propylène glycol, d'isopropanol, de glycolate ou de lactate (ce dernier en présence aussi de 10 000 U/l de LDH) ou 5 mmol/l de méthanol.

Toutes les autres solutions (standards, interférants) ont été préparées par le site de Vannes et envoyées dans les mêmes conditions.

Calcul du prix de revient d'un résultat :

Une cohorte fictive de 10 éthanolémies/jour pendant 15 jours consécutifs a servi de base pour le calcul du prix de revient du résultat. Il a été tenu compte:

- du prix catalogue TTC des réactifs, étalons et consommables nécessaires à la réalisation de ces 150 dosages
- de la nécessité de recalibrer le réactif pendant cette période (selon les résultats de l'étude de stabilité)
- de la nécessité de redoser sur une dilution (selon résultats de l'étude de la linéarité), sachant qu'une statistique faite auprès des sites sur la répartition de leurs résultats d'éthanolémies montre qu'en moyenne 15% de celles-ci dépassent 2,5 g/l, 9% dépassent 3 g/l et 4% dépassent 3,3 g/l.

Comparaison synthétique des trousses:

Une représentation synthétique des résultats de cette étude a été conçue pour faciliter la comparaison inter-trousses (cf. Figure 3). Pour chaque critère évalué un indice a été calculé, la valeur 1 étant attribuée au meilleur résultat observé, la valeur 10 au moins bon et les autres trousses recevant un indice compris entre 1 et 10 par intrapolation linéaire. L'indice présenté est une moyenne des résultats des deux sites et, le cas échéant, des points testés (répétabilité, reproductibilité, interférences des alcools primaires en C3 à C5). L'indice pour l'exactitude a été basé sur le pourcentage de résultats situés hors des limites d'acceptabilité. Pour le critère relatif à l'obligation d'utiliser un " appareil spécial ", une trousse ayant une adaptation décrite pour plusieurs automates a reçu un indice 1; un indice 5 a été attribué si la trousse est potentiellement adaptable à plusieurs automates et un indice 10 si elle nécessite un appareil spécifique.

Résultats

Contrôle de la valeur annoncée des standards et étalons :

Par rapport à la CPG-HS calibrée à 1,067 g/l (étalon Promochem), les solutions standards fournies par le site de Vannes ont donné des résultats s'écartant de moins de 0,6% de la valeur attendue. Parmi les étalons fournis avec les trousses, seuls deux s'écartaient de plus de 1% de leur valeur annoncée: le Sigma et l'Eurobio, tous deux par excès (+6,2% et +5,5% respectivement). Il a été tenu compte de cette déviation dans l'étude de l'exactitude pour les sites ayant utilisé ces étalons.

Propriétés analytiques des trousses : la linéarité, la répétabilité, la reproductibilité et la limite de détection observées pour les différentes trousses sont présentées [Tableau I](#). Pour l'Ektachem, les résultats obtenus avec les standards d'éthanol dans NaCl 9 g/l sont inférieurs aux valeurs attendues : le facteur est constant (0,81) et reproductible quelle que soit la concentration dosée et ce décalage, consécutif à un effet de matrice (le système est calibré avec un étalon sérique), n'affecte pas la validité des CV présentés pour cette trousse.

Interférences : les interférences dues à d'autres molécules que l'éthanol et l'influence de paramètres propres à la matrice plasmatique sont présentées [Tableau II](#) et [Tableau III](#).

Exactitude : les résultats obtenus sur les 36 plasmas comparativement à la CPG-HS sont présentés

Praticabilité et prix de revient : ces données sont présentées [Tableau IV](#)

Comparaison inter-trousses: indices obtenus par chaque trousse pour les différents critères évalués dans notre étude.

Discussion et conclusions

Les résultats de cette évaluation multicentrique des trousses de dosage automatisé de l'éthanol sont intéressants à plus d'un titre: ils rassemblent un grand nombre de réactifs et d'automates couramment utilisés en biologie hospitalière; ils rendent compte des principales limites rencontrées par les méthodes enzymatiques et, notamment, des problèmes de spécificité; enfin, ils sont pertinents car le protocole entrepris, très strict au plan de l'homogénéité des échantillons et de la simultanéité des séries de mesures entre les sites, a pu être respecté.

L'étude fait ressortir quelques observations (en partie) inattendues:

- les **standards** commerciaux n'ont pas toujours l'exactitude attendue et ils méritent toujours une vérification croisée (avec, par exemple, les ampoules scellées d'éthanol Merck ref. 8988-0001 à 9009-0001);

- si dans le contexte de l'urgence médicale et de l'usage courant de l' "alcoolémie" la **répétabilité** et la **reproductibilité** observées dans cette étude sont le plus souvent suffisantes, elles sont parfois inacceptables du point de vue de l'analyste pour des méthodes automatisées; et, dans les meilleurs cas, elles restent égales ou moins bonnes que celles obtenues en CPG-HS;

- la **linéarité** observée concorde avec les données des fournisseurs; une linéarité permettant de mesurer au moins 4 g/l d'éthanol est utile car, en plus d'éviter le coût et le délai d'une réanalyse, il peut s'avérer difficile de garantir l'exactitude d'une dilution de l'échantillon au 1/2 ou au 1/3;

- la **limite de détection** de ces trousse est suffisante puisqu'elles sont exclues d'un usage médico-légal (sang total);

- l'étude de l'**exactitude** des trousse par la comparaison avec une technique de référence (chromatographie gazeuse sur espace-de-tête) amène plusieurs commentaires:

* malgré les critères d'acceptabilité choisis, adéquats pour l'utilisation clinique des résultats mais plutôt tolérants d'un point de vue purement analytique, 17% des résultats dépassaient ces critères pour la meilleure des trousse et près de 50% pour la plus inexacte !

* ces scores n'étaient qu'inconstamment meilleurs pour les trousse dédiées à un automate spécifique; il semble plutôt que les qualités analytiques de la trousse (précision, linéarité) soient un meilleur garant de l'exactitude;

* des écarts entre les 2 sites pour la même trousse sont parfois observés, difficilement compréhensibles pour les trousse dédiées (même calibrant, même automate, etc.); le réactif Alcool-PAP étant sensible au méthanol (cf. spécificité ci-après), donne des résultats différents à 30°C et à 37°C en grande partie à cause de la présence de méthanol dans le plasma, particulièrement quand l'éthanolémie est forte (5).

- la **spécificité** a été étudiée à l'aide de solutions aqueuses et par ajout sur des plasmas:

1)- en solution aqueuse, sur les 22 composés testés, 14 n'ont pas montré d'interférence significative (moins de 3% d'interférence en mmol d'éthanol/mmol d'interférant), 5 ont influencé plusieurs trousse et 3 une seule trousse (Tableau II). Le protocole a prévu de tester ces molécules en l'absence d'éthanol mais aussi en présence d'éthanol, l'expérience ayant montré que parfois l'interférence ne peut s'exprimer qu'en présence du composé que l'on désire mesurer (par dépression de la réponse attendue, notamment) (6). Les interférences observées ont un impact pratique variable:

* ***l'acétaldéhyde*** n'est jamais en concentration plasmatique suffisante pour affecter la mesure enzymatique de l'éthanol;

* ***le butyl-glycol***, présent dans des produits ménagers, ne risque pas de perturber sensiblement la mesure hospitalière de l'éthanolémie du fait de la relative rareté des intoxications à ce produit et du faible taux d'interférence; il en est de même pour le *méthyl-glycol*;

* l'effet des ***alcools primaires supérieurs*** sur les trousse utilisant l'alcool déshydrogénase est quantitativement important, bien que très variable d'une trousse à l'autre (charge en enzyme ?). L'extrême rareté de l'intoxication par ces alcools rend cette interférence cependant très improbable en situation toxicologique courante;

* il n'en est pas de même pour ***l'isopropanol***: si certaines situations cliniques conduisent à la formation in vivo de faibles taux de cet alcool (ce qui interdit son utilisation en tant que standard interne pour la mesure CPG de l'éthanol (7)), l'isopropanol peut aussi être rencontré à des taux rapidement élevés en cas d'intoxication. Et un taux de 100 mmol/l (6 g/l d'isopropanol) peut, avec certaines trousse, donner un résultat d'éthanol faible (0,25-0,35 g/l) mais risquant de désorienter le diagnostic et le traitement;

* l'interférence du ***méthanol*** est plus préoccupante: elle affecte la trousse Alcool-PAP BioMérieux dont l'enzyme s'avère plus une méthanol-oxydase qu'une éthanol-oxydase dans les conditions opératoires retenues par le fournisseur; c'est, en effet, parce que la mesure photométrique est réalisée très tôt au cours de la réaction que

l'interférence est si élevée (8); une température réactionnelle basse ajoute un handicap à l'éthanol et l'interférence du méthanol à 30°C est le double de celle observée quand la mesure est effectuée à 37°C. Si les coffrets utilisant l'alcool déshydrogénase manquent à tout coup de détecter une intoxication au méthanol, l'utilisation de la trousse Alcool-PAP avec le protocole opératoire BioMérieux entraîne un risque grave, celui de "rassurer" le clinicien avec une éthanolémie "banale" à 3 g/l quand il s'agit d'une méthanolémie (env. 600 mg/l à 37°C) nécessitant d'être traitée dans les plus brefs délais. Cette interférence pourrait cependant être diminuée en effectuant une mesure plus tardive; elle peut aussi être évitée par l'utilisation d'une méthode cinétique appropriée, qui permet la mesure simultanée de l'éthanol et du méthanol, ce qui peut s'avérer très utile au cours du traitement par éthanolisation du patient (8).

2)- les 6 **plasmas** contenant des molécules potentiellement interférentes ont donné des résultats plus ou moins concordants avec ceux trouvés sur solutions aqueuses; cependant, alors que la CPG-HS confirmait l'absence d'éthanol pour 4 de ces 6 plasmas, de nombreux résultats supérieurs à 0,1 g/l ont été rendus avec les techniques à l'alcool déshydrogénase, même pour le plasma contenant du méthanol. Ce phénomène semble avoir affecté aussi d'autres études (9).

Les résultats du plasma contenant à la fois du *lactate et de la LDH* ont confirmé la sensibilité plus grande du réactif EMIT à cette coïncidence pathologique (10): le lactate seul n'a pas d'effet (ex.: 100 mmol/l dans notre étude), mais la présence simultanée de fortes concentrations de LDH est capable de générer du NADH qui est mesuré comme de l'éthanol (11); ceci a été noté aussi pour d'autres dosages (12-14). La raison de la moindre sensibilité des autres trouses utilisant l'ADH vis-à-vis de cette interférence reste mal comprise. Dans la pratique, la probabilité de rencontrer de tels taux de lactate et de LDH est infime et il faut rappeler que les cas décrits d'interférence ont le plus souvent concerné des prélèvements post-mortem .

- la **modification de la matrice** plasmatique par ictère, hémolyse ou lactescence peut perturber certains procédés qui font appel à une mesure par fluorescence ou reflectométrie. L'inhibition de la trousse Alcool-PAP par un des composants du sérum Lin-Trol Sigma, inhibition non retrouvée quand des plasmas humains contenant une quantité équivalente de triglycérides et de cholestérol sont testés, reste sans explication, la société Sigma n'ayant pas livré la composition exacte de ce produit.

- la **praticabilité** d'un dosage susceptible d'être demandé en urgence, de jour comme de nuit, est un critère important: à l'instar de nombreuses autres analyses courantes, la mesure de l'éthanol en laboratoire hospitalier devrait bénéficier en 1997 d'un réactif prêt à l'emploi, embarqué en permanence sur l'automate, ayant une calibration stable plusieurs jours (voire semaines) et adapté à un automate travaillant sur tube primaire. Deux trouses répondent à l'ensemble de ces critères.

- enfin, le **prix de revient** du résultat n'est pas à négliger non plus et notre étude souligne la très grande disparité des coûts d'une trousse à l'autre.

En conclusion, cette évaluation montre que les méthodes enzymatiques de dosage de l'éthanol que nous avons testées sont acceptables pour un usage hospitalier courant. La spécificité de la mesure, bien que parfois citée sans problème (9,15,16), reste cependant leur point faible; et une trousse nécessiterait une modification du protocole opératoire afin de corriger l'interférence du méthanol (Alcool-PAP). Notre étude montre aussi que toutes les méthodes utilisant l'ADH n'ont pas les mêmes qualités analytiques ni un coût comparable. Le choix d'un réactif étant parfois influencé par l'automate déjà présent au laboratoire, il appartiendra au biologiste de rester vigilant et, dans toute situation douteuse (notamment en cas d'acidose ou de cétose), de confirmer par CPG ses résultats d'éthanolémie.

REFERENCES

1 - Redetzki HM, Dees WL. *Comparison of four kits for enzymatic determination of ethanol in blood.* Clin Chem 1976; 22: 83-6

2 - Schmitt G, Aderjan R, Schmidt G. *Precision of blood alcohol determination using GC and ADH methods.* Blutalkohol 1991; 28: 325-8 (en Allemand)

3 - Wilson JF, Barnett K. *External quality assessment of techniques for assay of serum ethanol.* Ann Clin Biochem 1995; 32: 540-4

- 4 - Le Henaff Y. *Contrôle de qualité spécialisé: alcoolémie*. Annales de Contrôle de Qualité National 1990; mai: 56-9
- 5 - Malandain H, Cano Y. *Interferences of glycerol, propylene glycol and other diols in the enzymatic assay of ethylene glycol*. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996; 34: 651-654
- 6 - Malandain H, Cano Y. *Serum methanol in the absence of methanol ingestion*. Ann Emerg Med 1996; 28: 102-103
- 7 - Malandain H, Cano Y. *Ethanol sanguin et isopropanol*. Ann Biol Clin 1996; 54: 97
- 8 - Malandain H, Cano Y, Goullé JP. *A simple method to overcome methanol interference with alcohol-oxidase reagents and to measure simultaneously plasma ethenol and methanol*. in "Biologie Prospective", Galteau MM, Siest G et Henny J Eds, John Libbey Eurotext, Paris 1993, pp. 405-408
- 9 - Jortani SA, Poklis A. *EMIT ETS+ ethyl alcohol assay for the determination of ethanol in human serum and urine*. J Anal Toxicol 1992; 16: 368-371
- 10 - Badcock NR, O'Reilly DA. *False positive EMIT-st ethanol screen with postmortem infant plasma*. Clin Chem 1992; 38: 434
- 11 - Nine JS, Moraca M, Virji MA, Rao KN. *Serum-ethanol determination: comparison of lactate and LDH interference in three enzymatic assays*. J Anal Toxicol 1995; 19: 192-196
- 12 - Whinna HC, Krueger-Nielsen S, Uomoto J, Raisys V. *Paramax triglycerides reagent: interference from high lactate and lactate deshydrogenase*. Clin Chem 1996; 42: 778
- 13 - Sloop G, Hall M, Simmons GT, Robinson CA. *False-positive postmortem EMIT drugs-of-abuse assay due to lactate dehydrogenase and lactate in urine*. J Anal Toxicol 1995; 19: 554-556
- 14 - Eder AF, Dowdy YG, Gardiner JA, Wolf BA, Shaw LM. *Serum lactate and LDH in high concentrations interfere in enzymatic assay of ethylene glycol*. Clin. Chem. 1996 ; 42 : 1489-1490
- 15 - Jortani SA, Poklis A. *Evaluation of the ADX REA assay for the determination of ethanol in serum and urine*. J Anal Toxicol 1993; 17: 307-309
- 16 - Urry FM, Kralik M, Wozniak E, Crockett H, Jennison TA. *Application of the Technicon Chem-1+ Chemistry Analyser to the Syva EMIT ethyl alcohol assay in plasma and urine*. J Anal Toxicol 1993; 17: 287-291

Tableau I : Propriétés analytiques des trousses

(les données ci-dessous sont la moyenne des 2 sites)

Trousse	Linéarité g/l	Répétabilité %			Reproductibilité %		Limite de détection g/l
		0,5 g/l	1 g/l	2 g/l	0,5 g/l	2 g/l	
ACA Dade	> 4	1,35	1,37	0,77	1,60	1,08	0,014
ADX/TDX Abbott	> 3	5,59	3,15	2,50	11,3	3,69	0,039
Alcool-PAP Bio-Mérieux	> 4	1,46	1,77	1,61	1,62	1,77	0,018
Axsym Abbott	> 3	6,02	4,19	2,63	7,81	5,25	0,034
CX Beckman	> 2	1,12	1,56	1,10	2,12	1,66	0,006

Ektachem Ortho	> 3	1,35	1,25	2,11	3,00	2,41	*
EMIT Behring	> 4	4,72	2,53	1,00	5,35	2,91	0,018
Ethyl Alcohol Boehringer	> 4	1,51	1,20	1,40	1,21	0,77	0,015
Eurobio	> 4	6,29	5,71	4,01	12,3	1,85	0,048
MPR2 Boehringer	> 4	2,06	1,24	1,47	4,74	1,41	0,016

* L'étude de la limite de détection n'a pas été réalisée sur Ektachem (non détection de l'échantillon)

Tableau II: Interférences et influence de la matrice plasmatique

(les données ci-dessous sont la moyenne des 2 sites;-seuls sont présentés les résultats >3%)

Trouss e	Pourcentages d'interférence (sur une base équimolaire avec l'éthanol) §								Effet de la matrice (déviation en % de la réponse d'un standard à 2 g/l)\$\$		
	Méthanol	1-Propanol	1-Butanol	1-Pentanol	Isopropanol	Méthylglycol	Butylglycol	Acétaldéhyde	Bilirubine	Hémoglobine	Lipoprotéines
ACA Dade		87	71	48	7,9		5,4		-3,4		
ADX/TDX Abbott		42	10,6	4,7					4,2		5,0
Alcool-PAP Bio-Mérieux	302*	38	26	8,9		3,4			9,2	7,8	-34**
AxSYM Abbott		99	48	21	6,9		3,6			11,2	14,5
CX Beckman		87	44	23	7,9		3,9				
Ektachem Ortho		46	27	14	4,4			-3,5	22	9,4	8,1
EMIT Behring		14									-3,4
Ethyl Alcohol Boehringer		13	4,2								-3,3
Eurobio		74	44	23	4,7		3,5				

MPR2 Boehringer		51	37	24	3,5						
--------------------	--	----	----	----	-----	--	--	--	--	--	--

\$ Moyenne des résultats observés en l'absence et en présence d'éthanol (20 mmol/l) et produits par une concentration de 100 mmol/l d'interférent.

\$\$ Il n'a pas été observé d'influence significative de la matrice plasmatique en l'absence d'éthanol pour aucune trousse.

* Testé à 37°C avec une solution à 5 mmol/l (160 mg/l); à 30 °C l'interférence est de 643 %

** Présence d'un inhibiteur dans les stabilisants du serum Sigma: l'interférence n'est pas reproduite avec des plasmas humains.

Tableau III: Résultats obtenus sur des plasmas surchargés

Trousse	Réponse observée en éthanol (g/l) en présence de :					
	Méthanol (5mmol/l)	Isopropanol (50 mmol/l)	Ethylène glycol (50 mmol/l)	Propylène glycol (50 mmol/l)	Acide glycolique (50 mmol/l)	Acide lactique 50 mmol/l + LDH 10 000 U/l
ACA Dade	0,05	0,19	0,02	0,03	0,01	0,02
ADX/TDX Abbott	0,15	0,14	0,06	0,06	0,10	0,07
Alcool-PAP Bio- Mérieux	0,72*	0,01	0,05	0,17	0,01	0,01
AxSYM Abbott	0,08	0,16	0,04	0,02	0,05	0,08
CX Beckman	0,20	0,32	0,13	0,07	0,12	0,11
Ektachem Ortho	0,14	0,21	0,05	0,02	0,05	0,11
EMIT Behring	0,23	0,06	0,05	0,09	0,06	0,52
Ethyl Alcohol Boehringer	0,10	0,07	0,08	0,09	0,08	0,09
Eurobio	0,21	0,20	0,07	0	0,11	0,10
MPR2 Boehringer	0,12	0,22	0,15	0,08	0,14	0,13
CPG - HS	0	**	0	0,16	0	0

* Résultat à 37°C (Mira); le même plasma a donné un résultat à 1,45 g/l sur le site travaillant à 30°C (Hitachi 717)

** Résultat inférieur à la limite de détection (0,01 g/l), le pic d'éthanol ne pouvant être suffisamment distingué de celui, très important, d'isopropanol.

Tableau IV - Praticabilité et prix de revient du résultat

	Nécessite un automate dédié	Réactif prêt à l'emploi	Stabilité de la calibration	Prix de revient TTC d'un résultat (en F)
--	--------------------------------	----------------------------	--------------------------------	---

ACA Dade	Oui	Oui	> 2 sem.**	23,2
ADX/TDX Abbott	Oui	Oui	env 10 j	27,5
Alcool-PAP Bio-Mérieux	Non	Non	env. 1 j	2,1
Axsym Abbott	Oui	Oui	env. 2 j	21,1
CX Beckman	Non*	Non	env. 6 j	16,6
Ektachem Ortho	Oui	Oui	> 2 sem.**	8,0
EMIT Behring	Non	Non	env. 1 j	10,3
Ethyl Alcohol Boehringer	Non*	Oui	> 2 sem.**	8,9
Eurobio	Non	Non	env. 1 j	2,6
MPR2 Boehringer	Non	Non	env. 1 j	3,1

* Adaptations en cours

** L'étude n'a pas été prolongée au-delà de 2 semaines