



Mise en place de la technologie NIRS pour la quantification des lipides, de l'azote et de l'eau dans les selles dans un laboratoire de Biologie médicale hospitalier

Journée Utilisateurs Spectroscopie
Metrohm, 4 juin 2026

Laurence Barbot-Trystram
Laboratoire de Coprologie fonctionnelle
Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, APHP

4 juin 2026



Plan

2

- **Le contexte**
 - La problématique
 - Les contraintes du laboratoire
 - Le prélèvement fécal
- **La mise au point et la validation des dosages par NIRS**
- **La situation aujourd'hui**



La problématique

Les paramètres à doser dans les selles :

- Lipides (« plusieurs formes »)
- Protides
- Teneur en eau (poids sec)

Freins et scepticisme envers la technologie NIRS :

- Un spectre + plusieurs traitements mathématiques = résultats pour plusieurs paramètres (habitude : 1 molécule / 1 signal / 1 résultat)
- Pas de maîtrise des modèles mathématiques appliqués
- Prélèvement fécal « hétérogène » => doute sur la reproductibilité
- Historiquement : technologie inadaptée aux prélèvements pathologiques

Deux objectifs :

- 1) Mettre au point les dosages
- 2) Construire la confiance des biologistes et techniciens dans les résultats obtenus.



Contexte

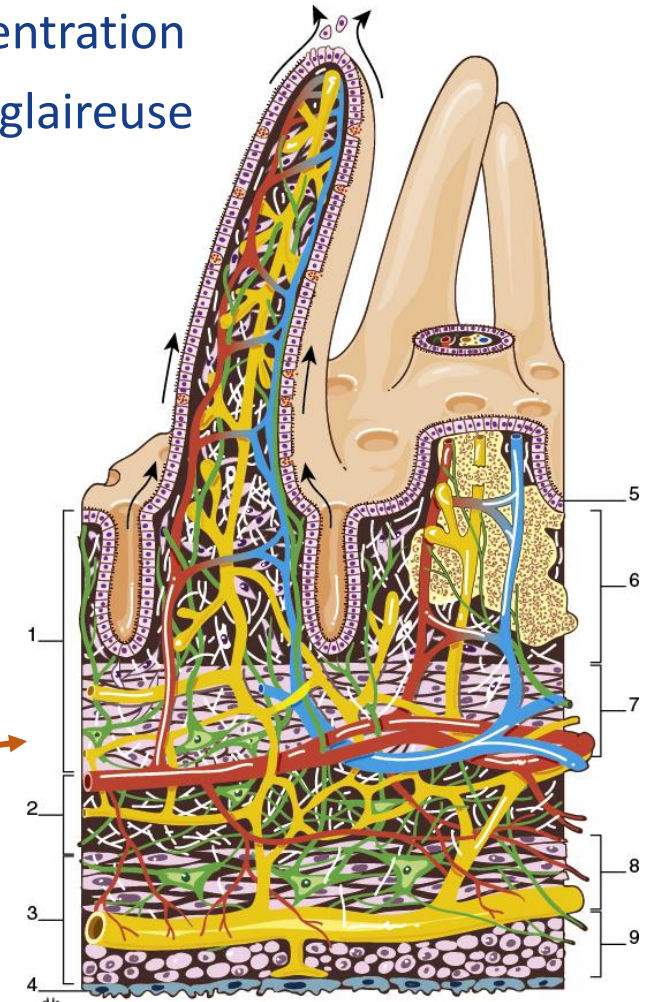
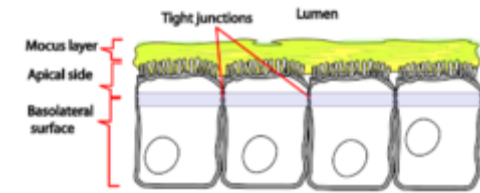
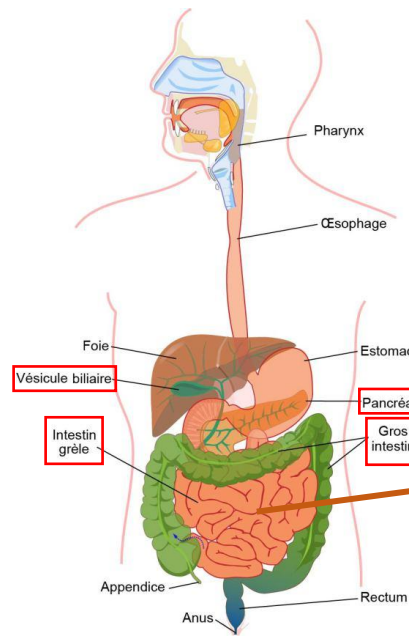


>> 1

La Coprologie fonctionnelle

4

- Exploration des diarrhées chroniques (hors causes infectieuses)
- Dosages dans les selles
- Rendu des résultats en débit par 24h, et non en concentration
- Consistance des selles variée : de liquide à « solide », glaireuse
- Matrice hétérogène complexe



Microbiote : de 10^2 à 10^{12} bactéries par g de selles



Prélèvement fécal = matrice hétérogène complexe

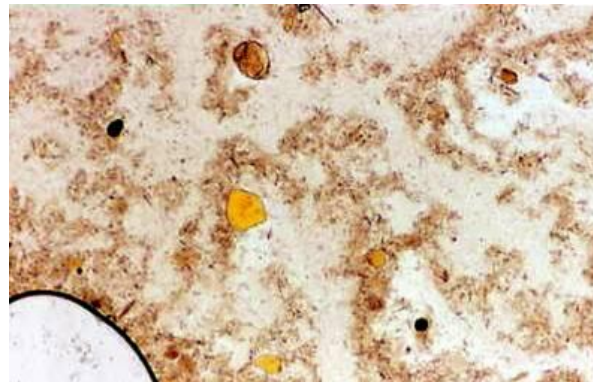
- eau, électrolytes, sécrétions digestives, nutriments
- aliments, mucus, cellules intestinales (apoptose), bactéries (microbiote)...
- éléments iatrogènes (médicaments...)

L'examen microscopique des selles

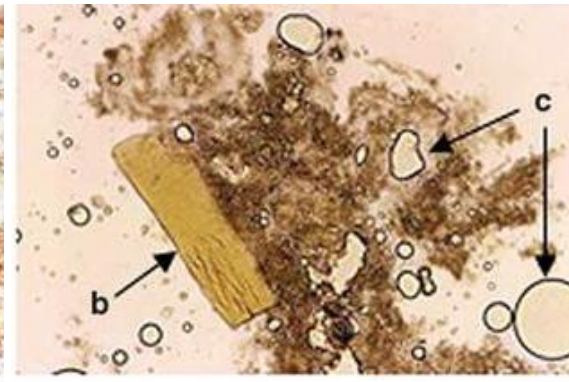
>> 1

Les selles

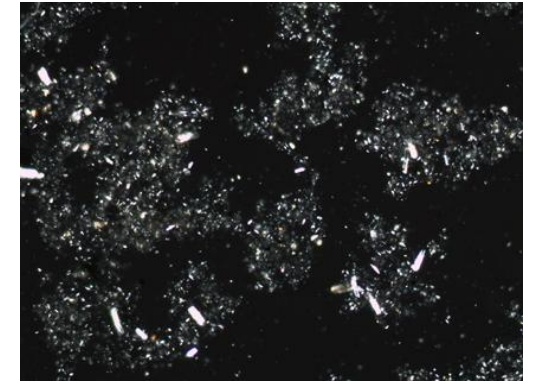
5



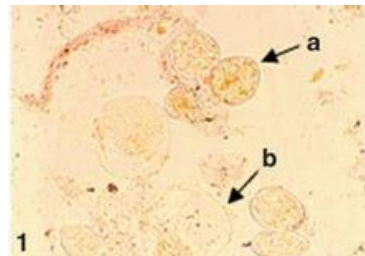
Selle normale
Etat frais (objectif x10)



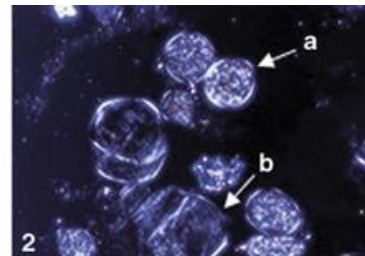
Selle avec maldigestion
Etat frais (objectif x10)



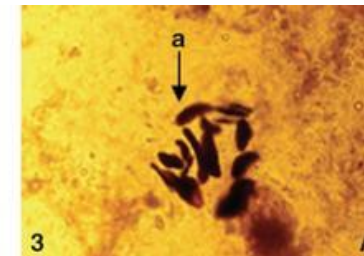
Polarisation (objectif x10)



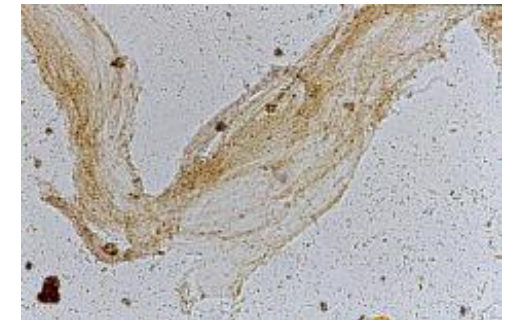
Cellules végétales
Etat frais, objectif x10



Cellules végétales
Polarisation, objectif x10



Amidon
Lugol, objectif x40





Contraintes Validation

6

Les contraintes :

- Pas de contrôle interne commercialisé en matrice fécale = fabrication interne
- Pas de substance pure
- Gammes de mesure souvent larges
- Interférences potentielles liées aux traitements

La validation et le rendu des résultats :

- Confrontation des résultats qualitatifs et quantitatifs d'un échantillon
 - Teneur en eau / aspect macroscopique
 - Lipides dosés / évaluation au microscope
 - Lipides / azote...
- Zone grise pour l'interprétation

Lipides fécaux : normal = 2 à 6 g/24h (adulte) Zone grise = 7 à 14 g/24h Pathologique > 14 g/24h

- Interprétation intégrée avec rédaction d'une conclusion (« tableau compatible ou non avec... »)

En Coprologie, nous n'avons pas la chaîne : une question ⇒ un examen ⇒ un résultat ⇒ une réponse



Impact de la technologie NIRS sur notre conception d'un dosage et de sa validation

» 2

Dosages par NIRS

7

Pourquoi le NIRS : gain de temps et d'espace de travail, pas de produits chimiques

Techniques de référence :

- Poids sec = dessèchement à l'étuve (pesée d'un aliquot avant / après)
- Lipides = titrimétrie selon la méthode de Van de Kamer
 - Transformation de tous les lipides en acides gras / Extraction / Mesure par titrimétrie
- Azote = catharométrie
 - Aliquot brûlé / Séparation des atomes CHNO / Mesure de l'azote moléculaire

Changement de mode de travail :

- **Méthode habituelle** : doser les échantillons sur la nouvelle méthode et comparer les résultats à ceux de la méthode en cours au laboratoire.
- **NIRS** : nécessité d'une étape préalable qui est d'acquérir les spectres et de créer le traitement mathématique à leur appliquer pour retrouver les résultats obtenus par la méthode en cours au laboratoire.



Impact de la technologie NIRS sur notre conception d'un dosage et de sa validation

» 2

**Dosages
par NIRS**

8

Deux objectifs :

- 1) Mettre au point les dosages
- 2) Construire la confiance des biologistes et techniciens dans les résultats obtenus.

- Travail en partenariat avec Metrohm
- 1ère étape : essai de faisabilité en 2018
- Décision d'achat
- Mise en place en juillet 2020





»» **2**

Dosages par NIRS

9

Protocole de validation – Metrohm

- Nombre élevé d'échantillons
- Technique de référence maîtrisée
- Comparer les résultats bruts exprimés en % (g / 100 g de selles natives)
- 2 jeux d'échantillons :
 - Jeu de calibration pour définir le modèle
 - Jeu de validation pour valider le modèle



2

Dosages par NIRS

10

Protocole de validation – Laboratoire

- Couvrir tous les types d'échantillons en :
 - consistance
 - poids sec (100 – teneur en eau) : 2,7 à 39 %
 - concentration lipidique : 0,6 à 9,4 % (0,4 à 85,6 g/24h)
 - concentration azotée : 0,07 à 2,5 % (0,10 à 7,77 g/24h)
- Comparer les résultats exprimés en débit / 24h
 - Tient compte du poids moyen des selles : de g à Kg
- Comparer les interprétations biologiques et médicales
 - Tenir compte des autres examens du bilan
 - Long et fastidieux, mais nécessaire
- Analyser les échantillons discordants en analytique ou en interprétation
- Dosages en triplicate / échantillon (suspension +/- hétérogène)

Mise au point des dosages en NIRS : jeu de calibration

» 2

**Dosages
par NIRS**

11

**Importance de la maîtrise des valeurs de référence,
et de la constitution du jeu de calibration**

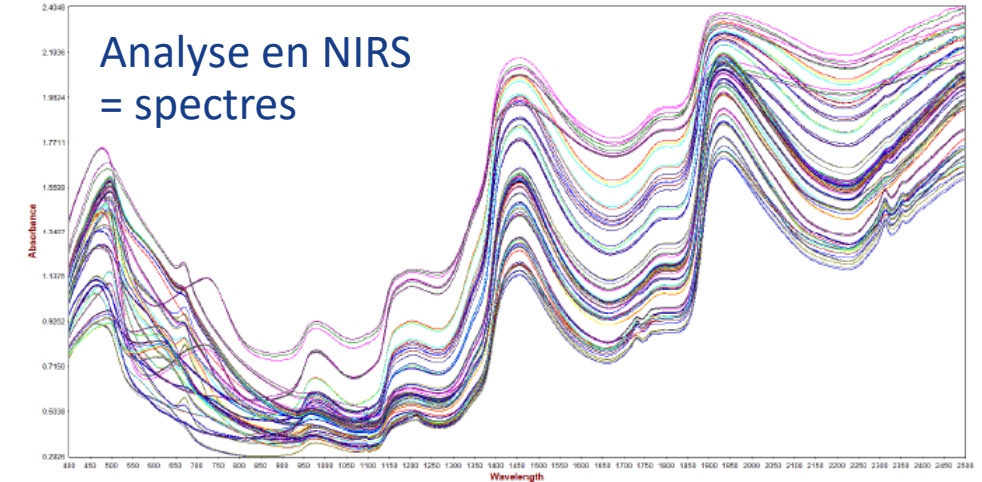
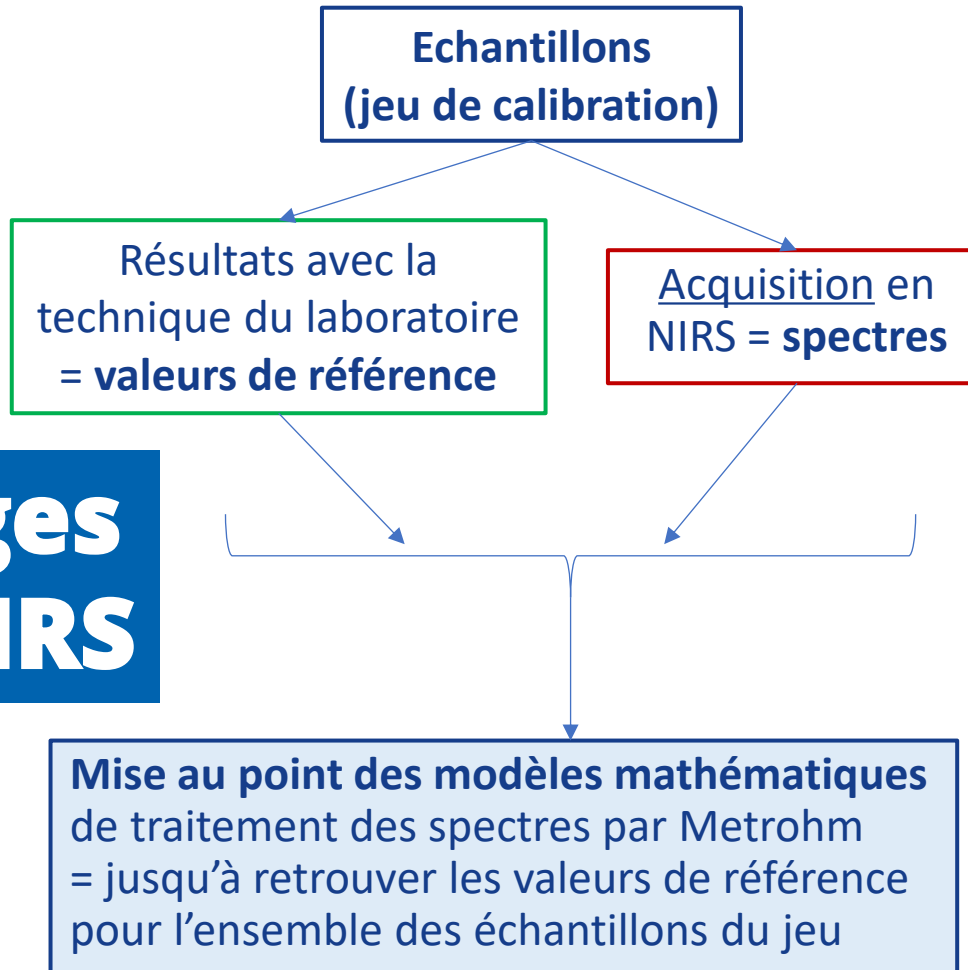


Figure 5 : spectre NIR brut des échantillons de calibrations collectés lors des essais

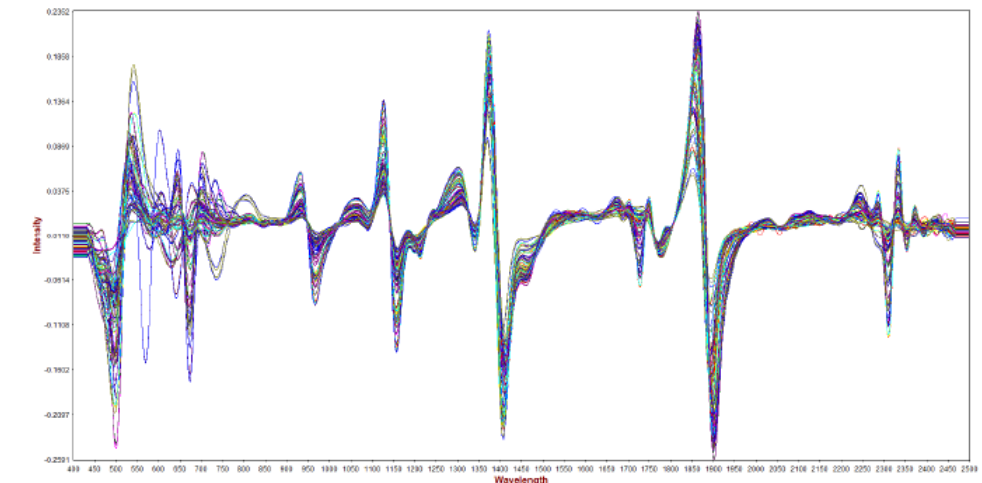


Figure 6 : spectres NIR dérivés 2 fois des échantillons de calibration



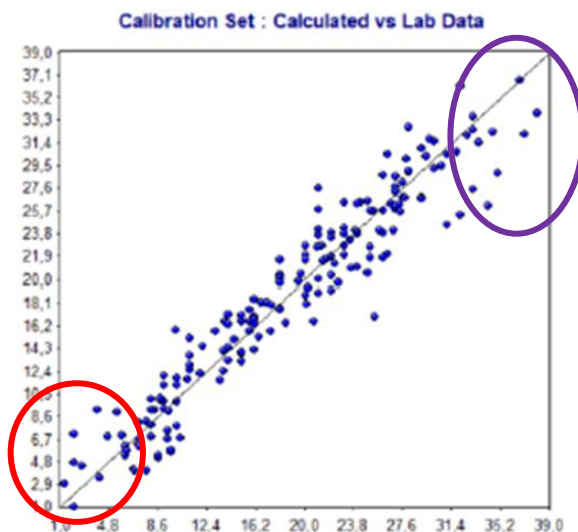
Le jeu de calibration

n = 200
(2018 + 2020)

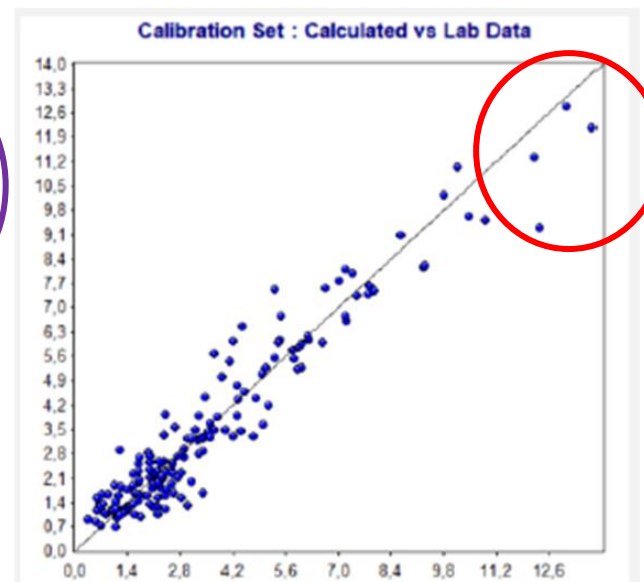
>> 2

Dosages
par NIRS

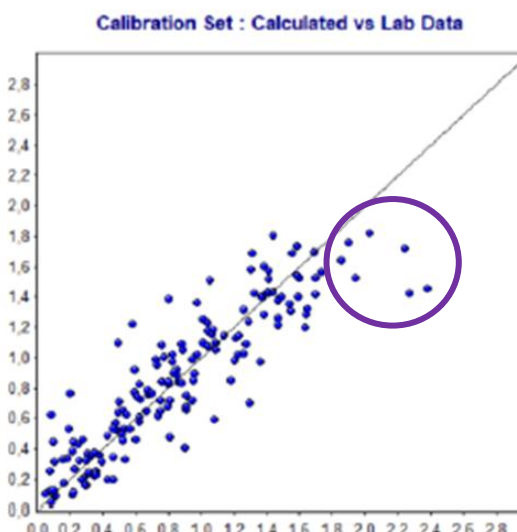
Poids sec (g/100g frais)



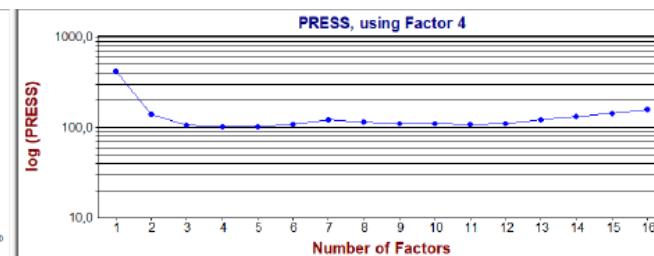
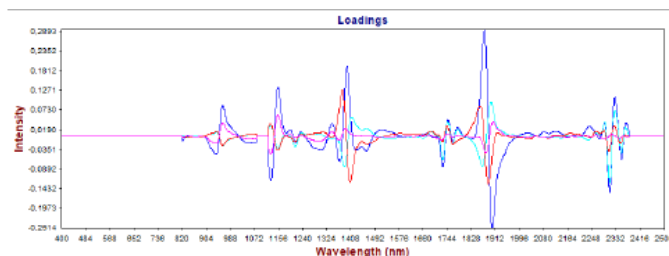
Lipides (g/100g frais)



Azote (g/100g frais)



Plus grande dispersion



Informations NIRS
pour choisir les
paramètres du modèle
mathématique

12

Set	Product Name	Sample Name	Computed %	Lab %	Residual	Group
Calibration	Calibration*	hps_002_1805C	3,3718	4,7482	-1,3764	1
Calibration	Calibration*	hps_003_1805C	1,2033	0,6481	0,5552	1
Calibration	Calibration*	hps_004_1805C	5,7303	6,5909	-0,8606	2
Calibration	Calibration*	hps_005_1805C	2,9762	2,7215	0,2547	2
Calibration	Calibration*	hps_006_1805C	1,3065	2,6087	-1,3022	3
Calibration	Calibration*	hps_007_1805C	4,4801	4,7546	-0,2745	3
Calibration	Calibration*	hps_008_1805C	2,2905	2,6154	-0,3249	4
Calibration	Calibration*	hps_009_1805C	4,0326	4,3902	-0,3576	4
Calibration	Calibration*	hps_010_1805C	4,0980	5,1429	-1,0449	5
Calibration	Calibration*	hps_011_1805C	1,3404	0,9833	0,3571	5

Factor	R Squared	dError Cal	PRESS	F-Value	dErr X Validat
Factor 1	0,4474	1,5085	416,4108	147,3502	1,5044
Factor 2	0,8212	0,8604	140,1195	415,6274	0,8727
Factor 3	0,8619	0,7584	107,0648	374,361	0,7628
Factor 4 *	0,8707	0,7359	101,127	301,2613	0,7414
Factor 5	0,8762	0,7221	102,4614	251,8477	0,7462
Factor 6	0,8801	0,7125	107,8906	216,5572	0,7657
Factor 7	0,8998	0,6532	122,9699	225,7664	0,8175
Factor 8	0,9132	0,6098	115,4762	230,035	0,7922
Factor 9	0,9198	0,5878	110,41	221,6735	0,7746

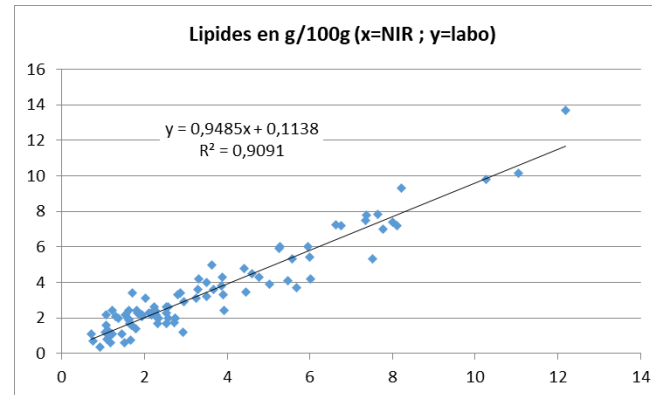


Le jeu de calibration

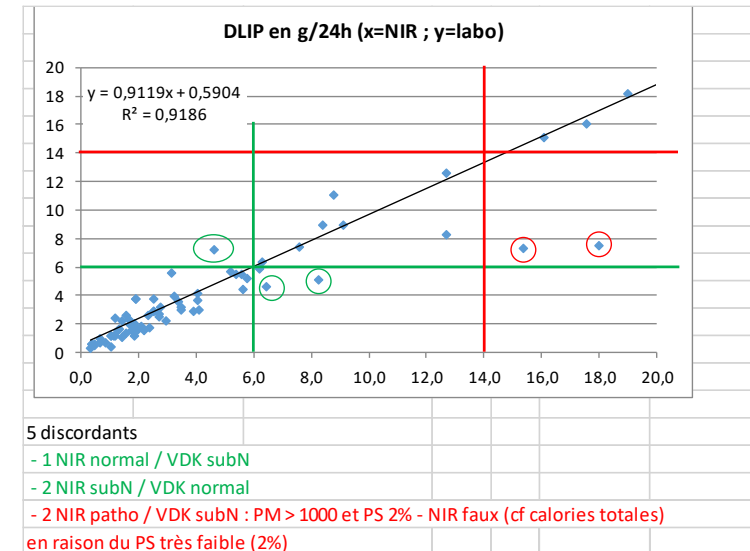
» 2

**Dosages
par NIRS**

Corrélation des données brutes en % (lipides)



Corrélation des valeurs en débit (g/24h) + impact sur l'interprétation



Analyse des échantillons discordants

=> Décision de retirer les échantillons extrêmes du jeu de calibration.

- Poids sec < 2 %
- Lipides > 10 %

Les méthodes de référence sont également en limite de quantification sur ces valeurs.

Adaptation des modèles mathématiques en lien avec les modifications du jeu de calibration.

Mise au point des dosages en NIRS / jeu de validation

» 2

Dosages par NIRS

14

Importance de la maîtrise des valeurs de référence, et de la constitution du jeu de validation

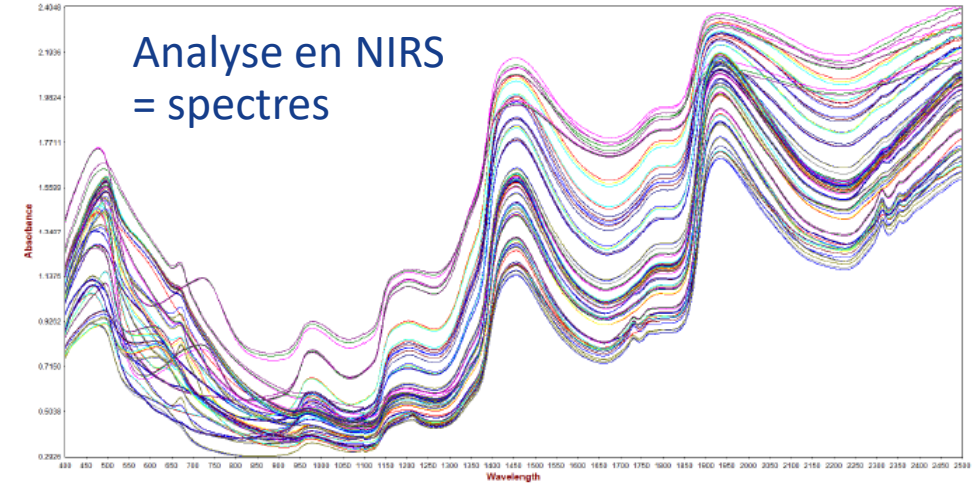
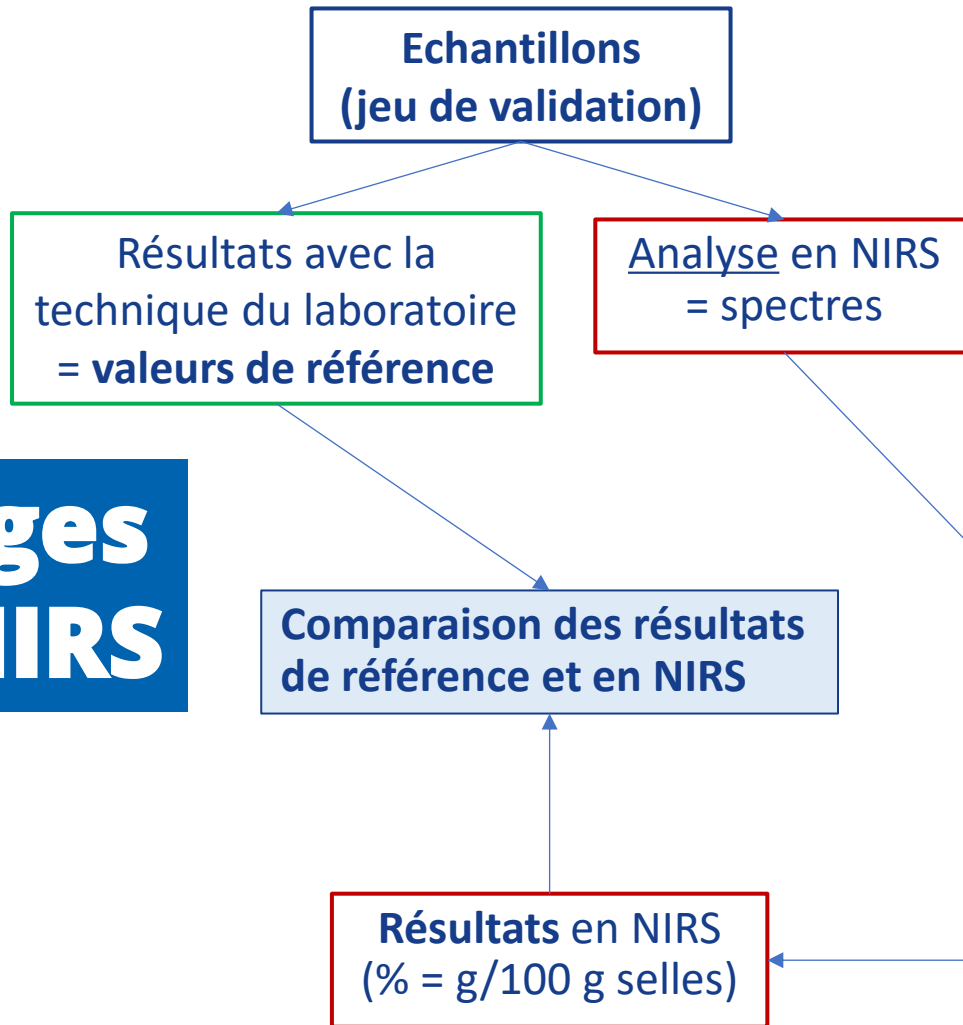


Figure 5 : spectre NIR brut des échantillons de calibrations collectés lors des essais

Traitement des spectres par les modèles mathématiques définis, échantillon par échantillon

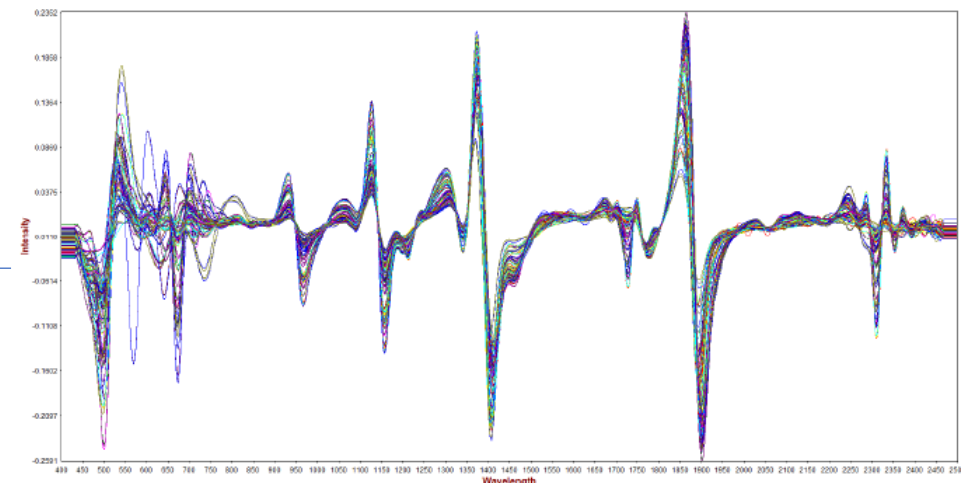


Figure 6 : spectres NIR dérivés 2 fois des échantillons de calibration



Le jeu de validation

n = 42

Minimum = 0,6 % ; 0,4 g/24h

Maximum = 9,4 % ; 85,6 g/24h

Représentatifs de l'activité du laboratoire

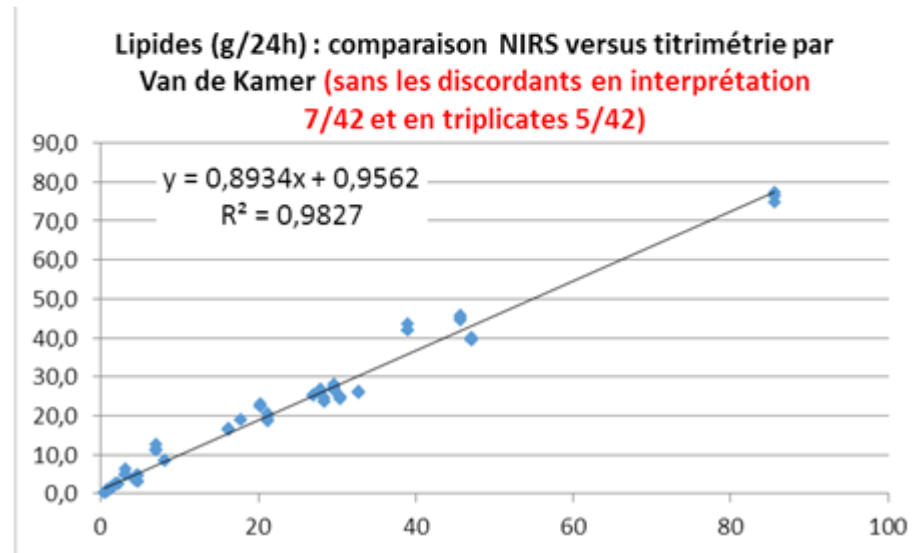
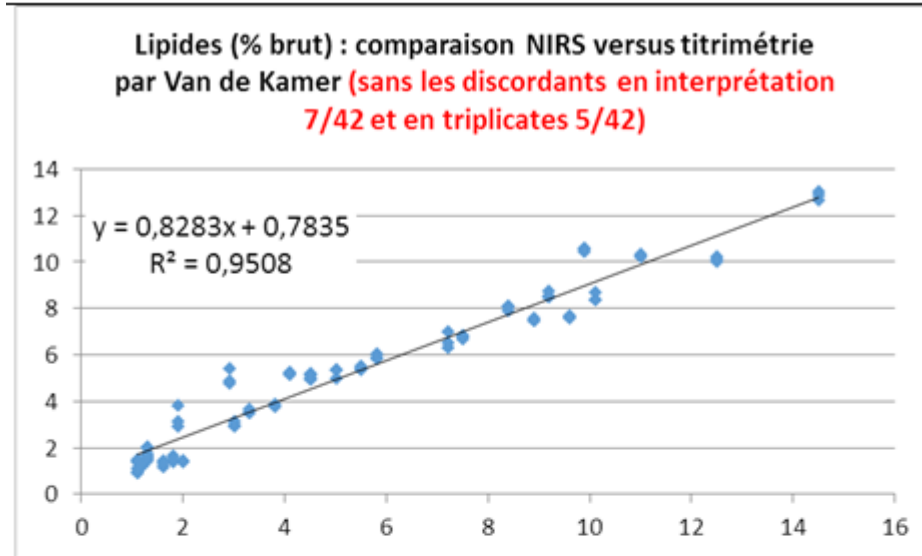
» 2

Dosages par NIRS

Discordants en triplicate :

- N'auraient pas été validé (discordance / bilan)
- Principalement des prélèvements extrêmes

15





La mise au point en pratique : impact de la congélation

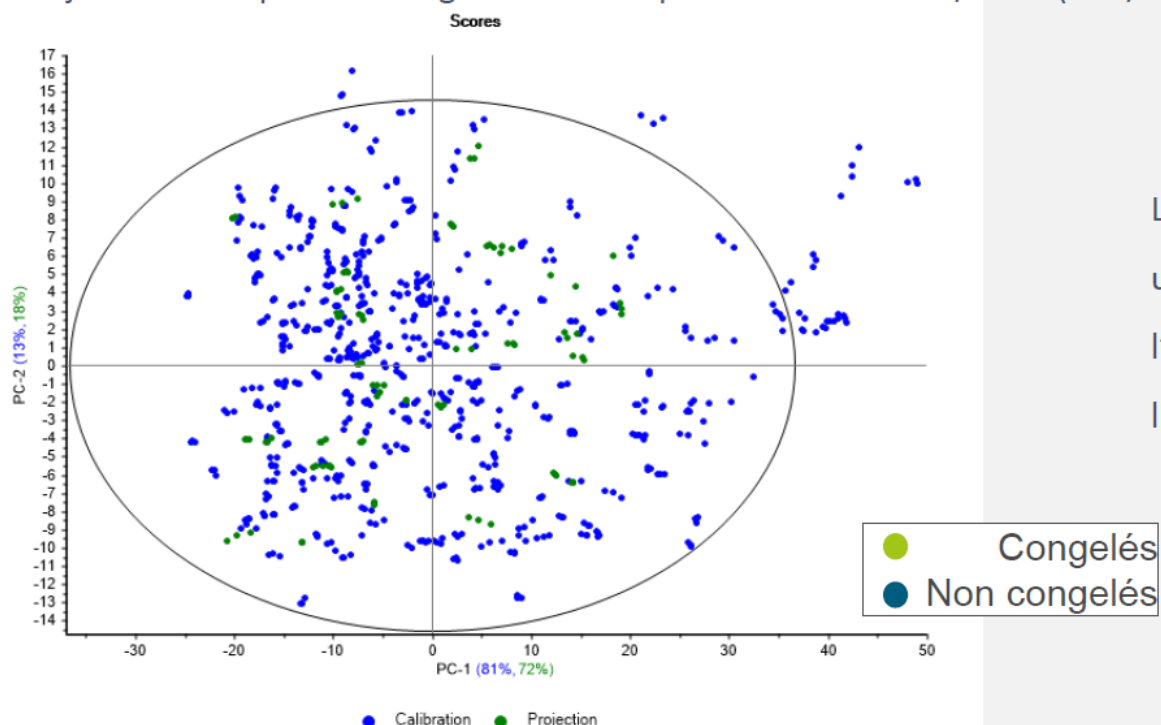
La congélation modifie la texture des selles.

Evaluation de l'impact de la congélation des selles sur les dosages en NIRS de lipides, d'azote et la teneur en eaux : analyse par Metrohm à partir des spectres.

» 2

**Dosages
par NIRS**

Projection des spectres congelés dans l'espace factoriel 2018/2020 (PC1/PC2)



Les spectres des échantillons congelés sont uniformément répartis sur l'ensemble de l'espace factoriel → Pas de variabilité spectrale liée à la congélation

Laboratoire d'application spectroscopie



2

Dosages par NIRS

17

Développer la confiance

- **Nombreuses réunions en équipe** : présentations, explications, analyses...
- **Analyse des résultats en triplicate** :
 - quelques discordances,
 - mais identifiables à la validation biologique, résultat mis à vérifier
- **Formation de l'équipe par Metrohm à la chimiométrie, explications sur les modèles et leur adaptation**
- **Paramétrage informatique réalisé pour une évaluation en vie réelle** :
 - avoir dans les dossiers les résultats classiques (méthodes de référence) et ceux du NIRS (non rendus au patient)
 - permettre d'évaluer l'impact des résultats du NIRS sur la validation biologique (interprétation médicale) sur les dossiers de patients.
- **Période** : installation en juillet 2020, premier résultat rendu en mai 2021



» 3

Bilan

18

La mise au point en pratique

- **Travail étroit avec Metrohm pour l'analyse des données**
 - Regards différents et compétences complémentaires
 - Ecoute et compréhension des besoins de chacun
 - Adaptation des modèles mathématiques : plusieurs allers-retours
 - Explication et aide à l'autonomisation sur les modèles mathématiques
- **Travail en équipe, techniciens et biologistes = constructif et fédérateur**
- **Confiance** de tous dans les résultats rendus, puis dans la technologie
- **Validation réalisée dans le respect des exigences d'accréditation**



Suivi du contrôle interne fécal (lyophilisat reconstitué)

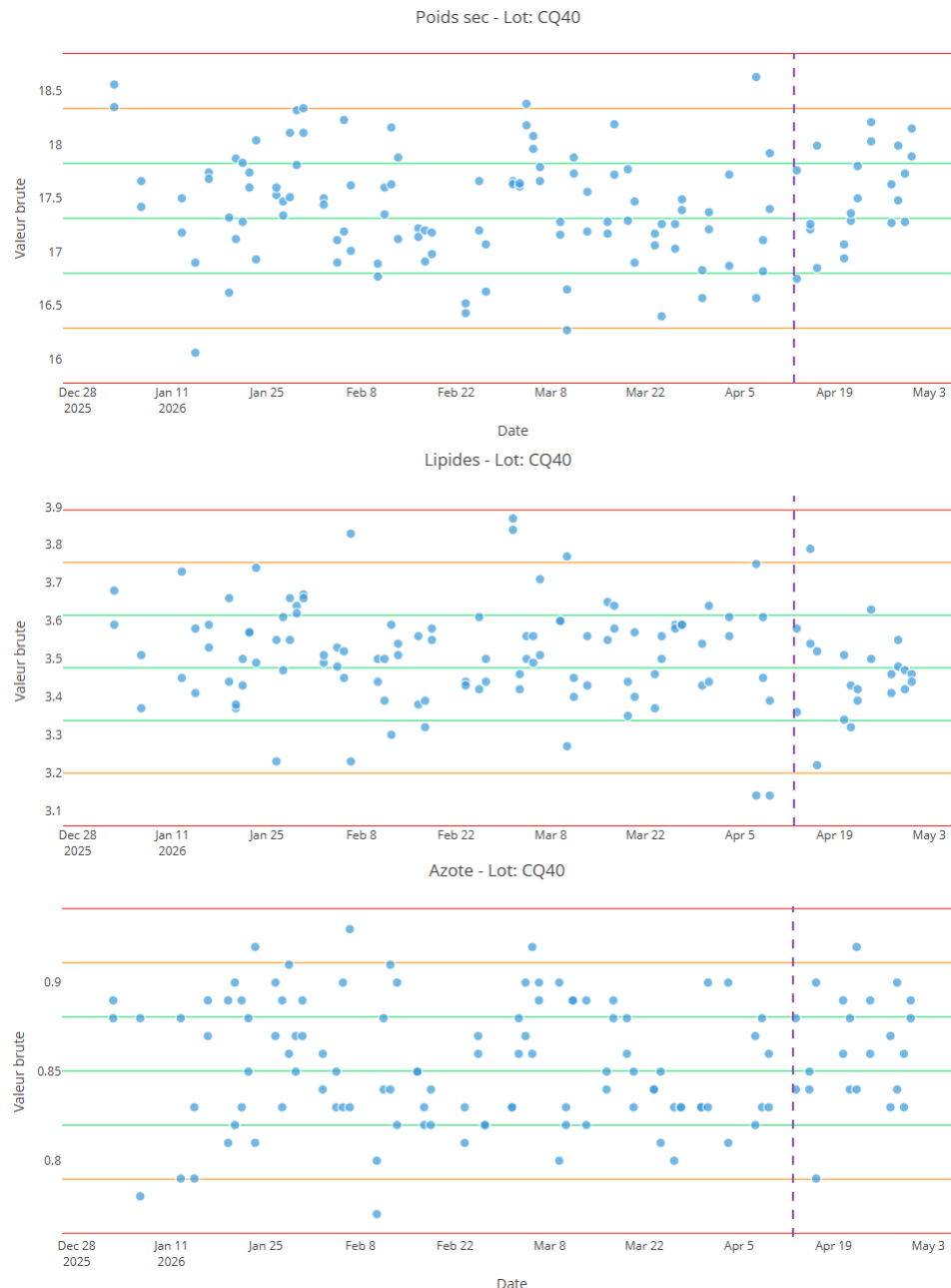
2 valeurs par jour :
début et fin de série

--- changement
de la lampe

» 3

Bilan

19



Poids sec

Moyenne = 17,43 %

CV = 2,9 %

n = 126

Lipides

Moyenne = 3,51 %

CV = 3,7 %

n = 126

Azote

Moyenne = 0,85 %

CV = 4,0 %

n = 126



Evaluation externe de la qualité (EEQ) Biologie Prospective (lyophilisat reconstitué)

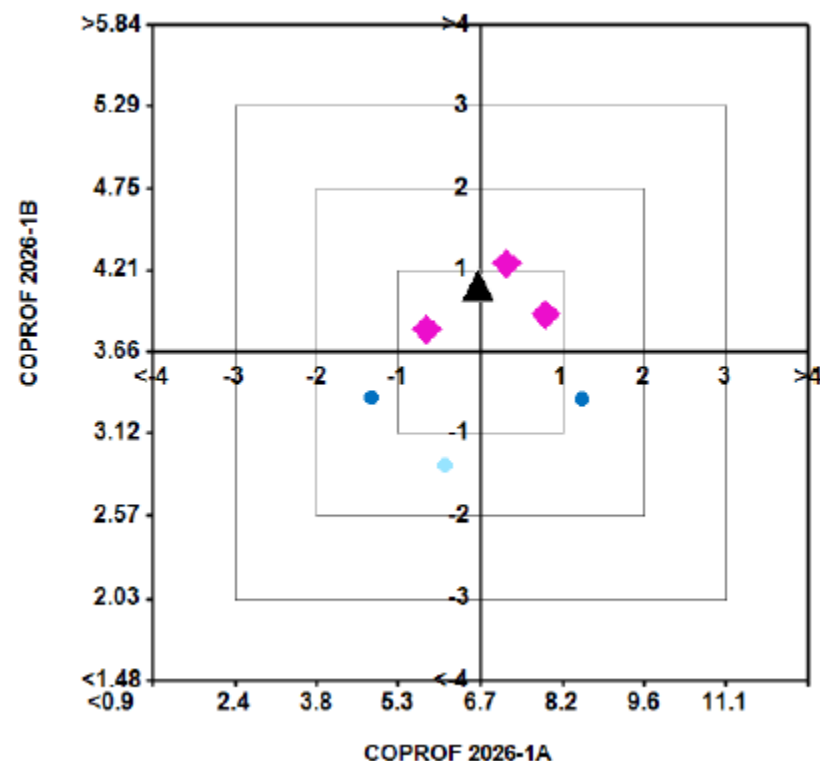
>>3

Bilan

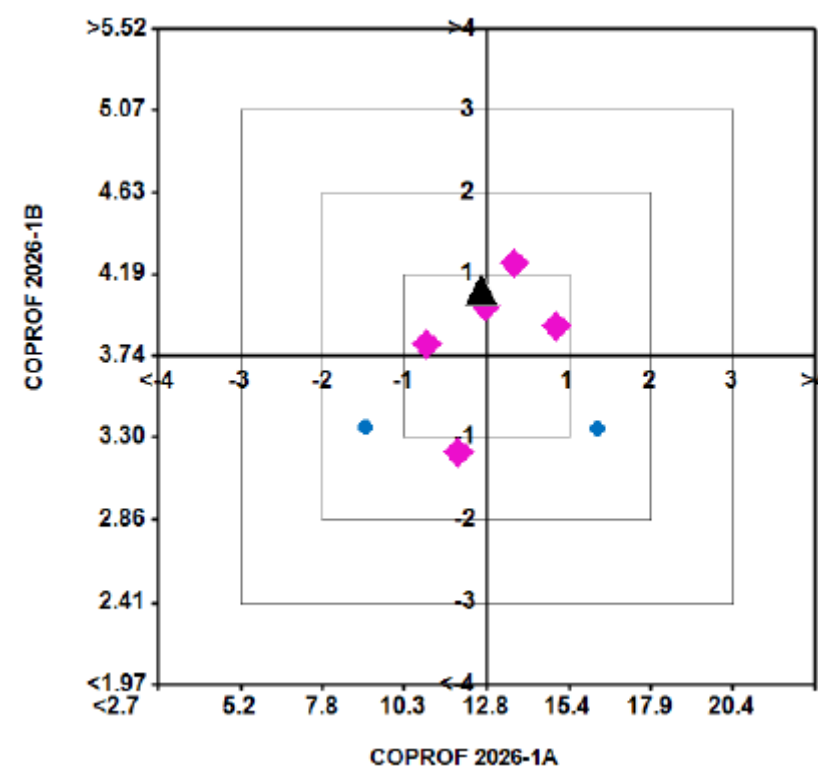
Légende :

- Autres techniques
- Autre(s) du groupe techniques
- Autre(s) de la même technique
- Autre(s) du groupe technique - automate
- Votre résultat

Lipides en g / 100g selles
Donnée brute fournie par le NIRS



Lipides en g / 24h
Donnée calculée et interprétée





Evaluation externe de la qualité (EEQ) Biologie Prospective (lyophilisat reconstitué)

>> 3

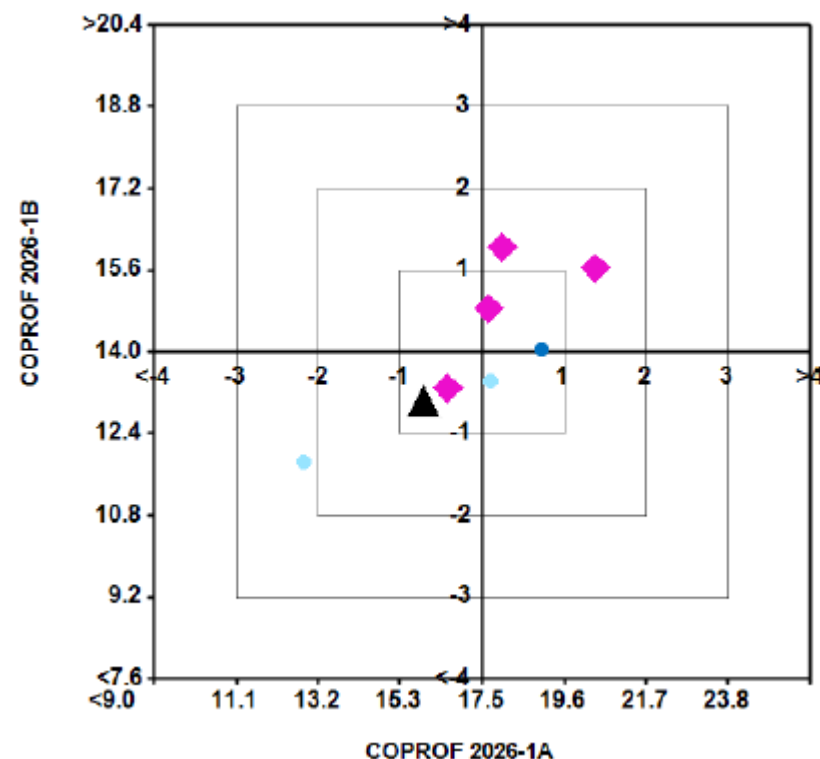
5 ans après

Légende :

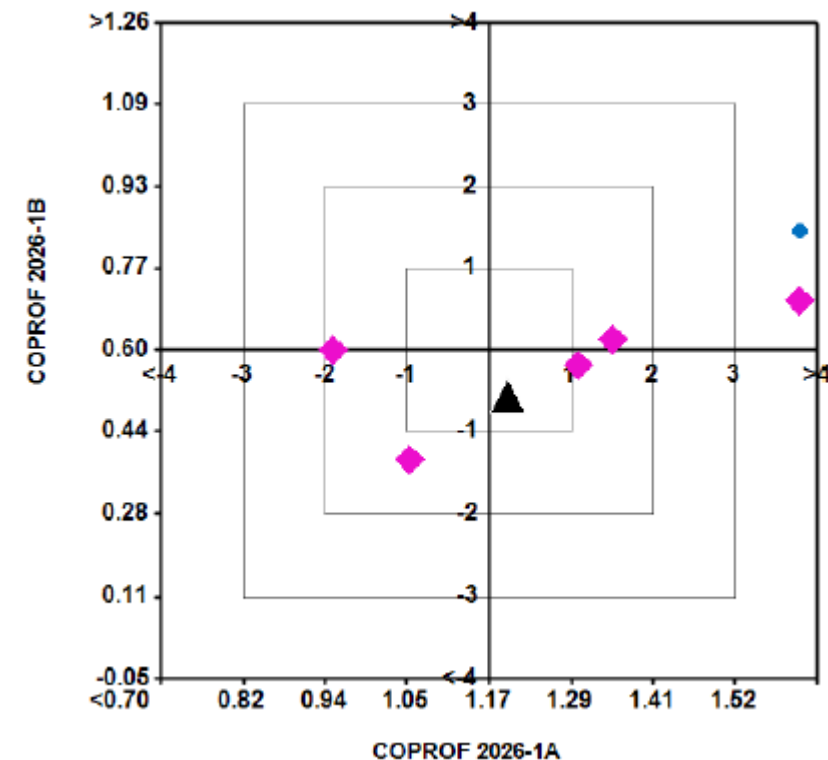
- Autres techniques
- Autre(s) du groupe techniques
- Autre(s) de la même technique
- Autre(s) du groupe technique - automate
- Votre résultat

21

Poids sec en %
Donnée brute fournie par le NIRS



Azote en g / 24h
Donnée calculée et interprétée



Plus grande dispersion



»»3

Bilan

22

La praticabilité au laboratoire

- Facile à utiliser
- Formation simple et rapide des utilisateurs
- Peu de maintenance :
 - Changement de la lampe : 2 fois par an
 - Nettoyage du filtre
- Rendu rapide des résultats
- Dosages individuels possibles au coup par coup
- Echantillon non consommé, disponible pour d'autres dosages



»»3

Bilan

23

En conclusion et situation actuelle

- **Avec 5 ans de recul :**
 - peu de résultats aberrants
 - modèle applicable à tous les échantillons (même ceux exclus du jeu de calibration)
 - résultats satisfaisants pour les cliniciens et les chercheurs
- **Dosages mis au point dans les repas** (bilans d'absorption en doubles plateaux)
- **Déploiement du NIRS dans d'autres laboratoires**
 - hospitaliers et de ville
 - comparaison annuelle des résultats (organisée avec Biologie Prospective)



24

Merci !