

Licence Sciences et Techniques (LST)

Technique d'Analyse et Contrôle de Qualité « TACQ »

PROJET DE FIN D'ETUDES

Méthodes des analyses biochimiques dans le laboratoire « Laalej »

Présenté par :

NAHED Nada

Encadré par :

♦ Pr. Pr. Bouayad Abdessalam (FST)

Soutenu, Le 09/07/2021 devant le jury composé de:

- Pr. BOUAYAD Abdelouahed
- Pr. KANDRI RODI Youssef
- Pr. BOUAYAD abdessalam

Stage effectué à : Laboratoire « Laalej » d'analyses médicales

Année Universitaire 2020 / 2021

FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES FES
B.P. 2202 – Route d'Imouzzer – FES

■ Ligne Directe: 212 (0)5 35 61 16 86 – Standard: 212 (0)5 35 60 82 14

Site web: http://www.fst-usmba.ac.ma

Remerciements

A l'issu de ce travail, j'aimerai examiner ma reconnaissance et mes sincères remerciements à tous qui m'ont apporté leurs soutiens, plus particulièrement :

A Mr Mohamed Laalej, directeur du LEM, et mon encadrant pour m'avoir permis de me joindre leur personnel et pour toutes les informations qu'il a apporté.

A toute l'équipe du laboratoire pour leur accueil, leur gentillesse et pour avoir répondre à plusieurs de mes guestions.

A mon encadrant Mr. Bouayad Abdesslam pour le temps qu'il m'a consacré, pour les conseils et l'aide concernant la rédaction de ce rapport.

J'adresse aussi mes vifs remerciements aux membres du jury: Mr. Abdelouahed Bouayad et Mr. Youssef Kandri Rodi pour avoir bien voulu examiner mon travail.

Enfin, à tous mes professeurs pout la qualité de l'enseignement qu'ils m'ont prodigué au cours de ces 3 années universitaires

Dédicaces

Je tiens, c'est avec grand plaisir, je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère ;

A mes chers parents, qui n'ont jamais cessé de formuler des prières à mon égard, de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs. Zue dieu les garde et les protège.

A mes grands-parents et ma sœur, qui ont partagé avec moi tous les moments d'émotion lors de la réalisation de ce travail, qui m'ont chaleureusement supporté et encouragé tout au long de mon parcours.

A toute personne qui de près ou de loin a participé à ma formation

Listes des figures

•	Figure 1: les différents locaux du laboratoire	2
•	Figure 2: organigramme	2
•	Figure 3 : secteurs d'activités du LBM	3
•	Figure 4: Les phases d'A.M	4
•	Figure 5 : Procédure de la ponction veineuse	7
•	Figure 6: ordre du remplissage des tubes	7
•	Figure 7: Diagramme de levey-Jennings	12
•	Figure 8 : Les règles de Westgard	13
•	Figure 9: Automate AU480	15
•	Figure 10 : Principe de la spectrophotométrie	15
•	Figure 11 : Spectre d'absorbance	16
•	Figure 12 : Droite de calibration	16
•	Figure 13 : Principe de la potentiométrie	17
•	Figure 14 : Principe de HPLC	19
•	Figure 15 :la centrifugation	20
•	Figure 16: Spectre d'absorption NAD/NADH	22
•	Figure 17 : légende d'un chromatogramme	25
•	Figure 18 : Suivi réactionnel Gly	26
•	Figure 19 : Droite du calibration :glycémie	26
•	Figure 20 : Carte du contrôle : glycémie	27
•	Figure 21 : Suivi réactionnel : créa	27
•	Figure 22 : Droite du calibration : Créa	28
•	Figure 23 : Carte du contrôle :Créa	28
•	Figure 24 : Suivi réactionnel : Urée	29
•	Figure 25 : Droite du calibration : Urée	29
•	Figure 26 : Carte du contrôle :Urée	30
•	Figure 27: Résultats des patients: HbA1c	31

Listes des tableaux

•	Tableau 1 : Différents tubes du prélèvement	6
	Tableau 2 : Choix des tubes selon les analyses	
•	Tableau 3 : Les différentes règles d'alarme	12
•	Tableau 4 : Différentes règles du rejet	13
•	Tableau 5 : Spécifications générales sur AU480	14
•	Tableau 6 : Spécifications générales sur GX	18
•	Tableau 7 : Réactifs Glycémie	21
•	Tableau 8 : Réactifs urée	23
•	Tableau 9 : Les différentes fractions de Hb	25

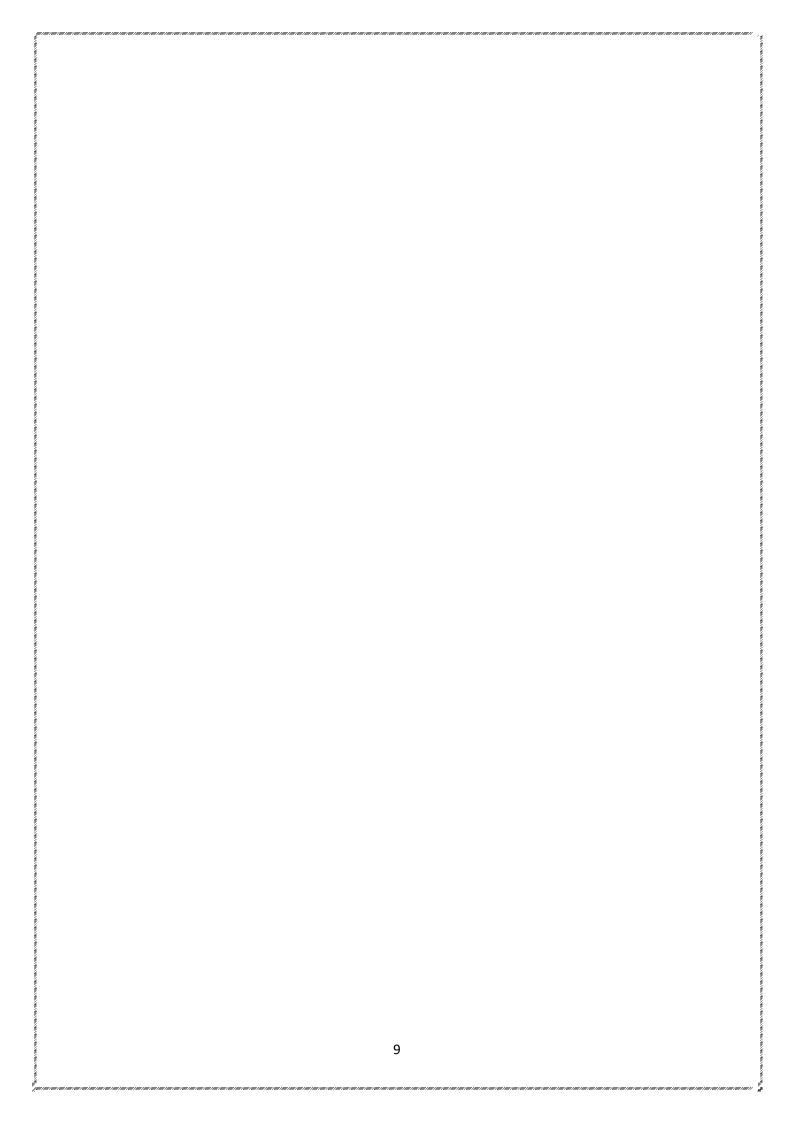
Liste des abréviations

- LBM : Laboratoire de la biologie médicale
- Na : SodiumK : Potassium
- HDL: "High density lipoproteins" lipoprotéines à haute densité
- BHCG: L'hormone chorionique gonadotrope humaine
- FSH: Follicle Stimulating Hormone, ou hormone folliculo-stimulante
- TSH: thyroid stimulating hormon, ou hormone thyréostimulante
- TP: Taux de prothrombine
- TCA: Temps de céphaline activée
- SIL : Système informatique du laboratoire
- EDTA: Ethylènediaminetétraacétique
- Vs : Vitesse de sédimentation
- CQ : Contrôle de qualité
- CIQ : Contrôle interne de qualité
- CEQ : Contrôle externe de qualité
- SD : Ecart type
- A: Absorbance
- **D.O**: Densité optique
- ISE : Electrode sélective ions
- HPLC: Chromatographie liquide à haute performance
- ATP : Adénosine triphosphate
- NAD⁺: Nicotinamide adénine dinucléotide
- Mg: Magnésium
- G6P-DH: Glucose-6-phosphate déshydrogénase
- GLDH: Glutamate déshydrogénase
- HbA1c: Hémoglobine glyquée
- **HbF**: Hémoglobine fœtale
- Gly: Glycémie
- Créa : Créatinine

Sommaire

int	roduction	1
1.	Présentation générale du laboratoire	2
II.	Etapes des analyses biochimiques	4
	A. La phase pré-analytique	
	1. La prescription	
	2. Accueil / Enregistrement du dossier	5
	3. Le prélèvement	5
	4. Etiquetage des échantillons	8
	5. Tri des échantillons	8
	B. La phase analytique	8
	1. Choix des méthodes	8
	2. Calibration et CQ	
	3. Exécution des analyses	9
	4. Validation technique	9
	C. La phase post-analytique	9
	1. Validation biologique	9
	2. Comptes rendus et transmission des résultats	
<i>III</i> .	Contrôle de qualité analytique	10
	A. Différents types du CQ	10
	B. Application du CIQ au sein du laboratoire :	11
	1. Objectif du CQ	11
	2. Matériel du contrôle	11
	3. Méthode et fréquence du contrôle	11
IV.	Matériels et résultats :	14
	A. Automate AU480	14
	1. Principe de la spectrophotométrie	15
	2. Principe de la potentiométrie ISE	16
	B. Automate HLC -723GX	18
	C. Paramètres biochimiques à doser	20
	1. La glycémie	20
	2. L'urée	22
	3. La créatinine	23
	4. Dosage de HbA1c	24
	7	

V.	Résultats et discussion :	26
	A. Résultats de La glycémie	27
	B. Résultats de La créatinine	
	C. Résultats de l'urée	28
	D.Résultats du HbA1c	31
Con	clusion	37



Introduction

La biochimie clinique ou chimie pathologique ou chimie clinique est le domaine de la biologie médicale qui est en général concerné par l'analyse des molécules contenues dans les fluides corporels (sang, liquide céphalo-rachidien, urines, etc.) et l'interprétation des résultats de ces analyses par un biologiste médical dans le but de caractériser l'origine physiopathologique d'une maladie.

La discipline est née à la fin du 19^e siècle avec l'utilisation de simples réactions chimiques tests pour divers composants du sang et urine. Au cours des nombreuses décennies qui ont suivi, d'autres techniques ont été appliqués à mesure que la science et la technologie progressaient, notamment l'utilisation de la spectrophotométrie, l'activité des enzymes, électrophorèse, chromatographie, etc.

L'automisation des laboratoires de biochimie est une longue histoire commencée en 1955. Actuellement, les systèmes disponibles se classent simplement en analyseurs spécialisés, analyseurs multiparamétriques simultanés, systèmes d'immunodosages, systèmes intégrés et plateformes robotisés.

A cette courte revue générale, on va examiner les principales caractéristiques des automates de biochimie tel que : le principe analytique, le milieu réactionnel, les méthodes de mesure employée pour le dosage de certains paramètres biochimiques.

I. <u>Présentation générale du laboratoire</u>

Nom: laboratoire Laalej d'analyses médicales.

Adresse: 15 Lot Kheira – Zouagha- Fès.

Médecin biologiste : Mr. Mohamed Laalej.

Organisation Locaux:

2 secrétaires

médicales

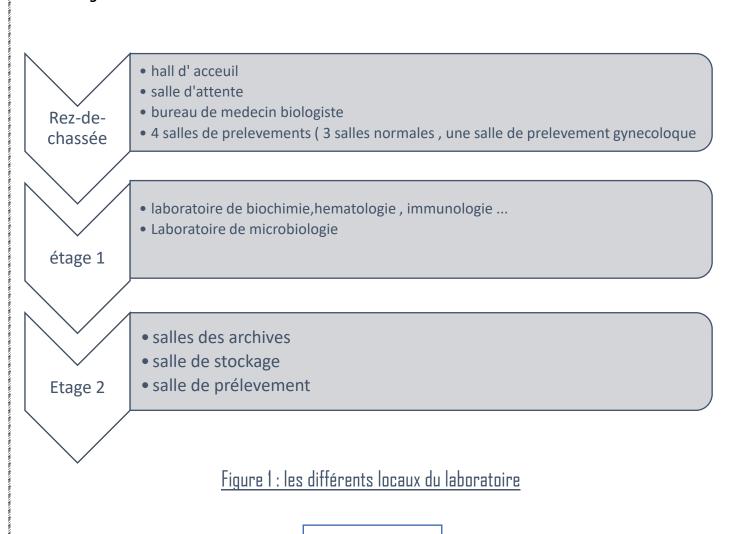


Figure 2 organigramme

4 infermiers

4 techniciens

de laboratoire

femme de

service

Medecin biologiste

♣ Secteurs d'activités du laboratoire

Les différentes analyses du laboratoire se divisent généralement en 6 specialités :

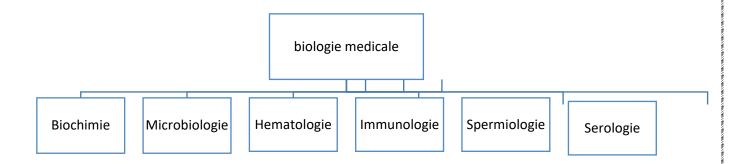


Figure 3 Secteurs d'activités du LBM

• La biochimie :

Science qui étudie la composition et la reaction chimique de la matière vivante et des substances qui en sont issues .

- ➤ Bilan lipidique (cholestérol , triglycérides) tient à la prévalence des maladies cardio-visculaires .
- La glycémie , la place de cette analyse tient à la prévalence du diabète .
- ➤ Bilan électrolytique (dosage du Na et K) , qui nous informe sur l'état hydrique du patient .
- Dosage d'enzyme .
- Analyse des gaz du sang (CO₂ , pH) , essentielle pour les patients qui sont en réanimation .

• L'hématologie :

Science qui étudie la structure histologique , la composition chimique et les propriètés physiques du sang .

L' hématologie peut se scinder en deux parties :

- L'hématologie cellulaire qui permet grâce aux hémogrammes :
 - ✓ Le dosage de l'hémoglobine .
 - ✓ Le comptage des éléments figurés (globule rouge ,leucocyte et plaquette) .
 - ✓ La différentiation des leucocytes
 - ✓ Le comptage des réticules diagnostiquant les anémies .

L' hémostase :

Cette technique étudie la coagulation, et les tests les plus couramment prescrits, qui sont les plus anciens, font appel à des mesures chronométriques d'un processus se déroulant in vivo, que l'on tente de reproduire in vitro: Il s'agit du passage de la phase lipide plasmatique en phase solide caillot (transformation de fibrinogène (proteine soluble), en fibrine (protéine insoluble).

• La microbiologie:

Science qui étudie les" m.o" tel que :

- Les virus (virologie).
- Les bactérie (bactériologie).
- Les parasites (parasitologie).
- Les champignons (mycologie).

Cette discipline est apparue au début du XIXème siècle et a été la première à se développer parmi les autres activités d'analyses biologiques. Mais par contre, de longues années se sont écoulées avant l'automisation de ces laboratoires contrairement aux laboratoires d'hématologie et de biochimie qui se sont automatisés très précocement.

Cette discipline est basée essentiellement sur l'identification des germes, du dosage d'antibiotique et la réalisation d'atibiogramme permettant au médecin d'optimiser le traitement des patients avec les antibiotiques adéquats .

• L'immunologie:

Cette discipline concerne l'exploration des molécules et des cellules du système immunitaire , les transpolations d'organe et les immuno-interventions thérapeutiques en particulier pour le cancer et le sida .

• La Spermiologie :

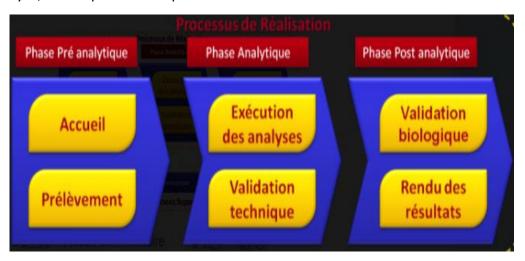
C'est une spécialité qui a pour but d'étudier la quantité et la qualité du sperme et donc des spermatozoides .cette discipline s'intéresse aux caractéristiques de l'éjaculat en tant que contribuant à la fécondation .

L'activité de cette unité se concentre sur l'étude du sperme éjaculé avec la réalisation du :

- Spermogramme
- Spermocytogramme
- > Test de capacitation et de survie
- Test post-coital

II. Etapes des analyses médicales

Les principales activités inclues dans le processus d'obtention des résultats à une demande d'analyse, sont réparties en 3 phases :



A. La phase pré-analytique

Série d'étapes commençant chronologiquement par la prescription des analyses par le clinicien, comprenant la demande d'analyse, la préparation du patient, le prélèvement du spécimen, l'acheminement jusqu'au laboratoire, le stockage et la centrifugation au sein du laboratoire, et finissant au début de la procédure analytique.



1. La prescription

C'est un acte médical. Il est le premier acte dans la réalisation d'un examen biologique. Il doit contenir les informations nécessaires suivantes :

- Le nom et prénom du prescripteur.
- Les coordonnées du prescripteur
- Le nom et prénom du patient.
- La date de la demande des analyses.
- La nature des analyses.

Le LABM peut réaliser la plupart des examens sous la demande des clients. Ces analyses ne seront pas prises en charge, ni par l'Assurance Maladie ni par la mutuelle, et resteront financièrement à la charge des clients.

2. Accueil /Enregistrement du dossier

Dès son arrivée, le patient dépose son ordonnance dans la réception et attend son tour, afin de faire enregistrer sa demande des analyses.

Lorsque son tour arrive, il est alors reçu par une secrétaire qui lui demande les informations nécessaires à l'enregistrement de son dossier : Nom et prénom, date de naissance, adresse, N° téléphone et renseignement cliniques. Après vérification des renseignements, un N° du dossier est créé dans le SIL, et les données précédentes sont rapatriés dans le dossier, et les examens prescrits sont enregistrés.

Les données sont validées, ce qui engendre l'édition d'une fiche de suivi médicales et des étiquettes codes à barres nominatives (nom et prénom du patient, code de référence et les examens à réaliser). Ces documents, ainsi que l'ordonnance sont déposés dans une boite de rangement.

Le patient ensuite est redirigé vers la salle d'attente.

- 3. Le prélèvement
 - a) Prélèvement sanguin
 - ♦ Choix des tubes

Les principaux tubes sont :

Tube EDTA Bouchon violet	Tube citrate /CTAD («coagulation») Bouchon bleu +/-/anneau jaune	Tube hépariné Bouchon ver t	Tube sec Bouchon rouge	Tube iodacétate Bouchon gris	Tube VS Bouchon noir
Sang total EDTA / plasma EDTA	Sang total citraté / plasma citraté	Sang total hépariné / plasma hépariné	Sérum	Sang total fluoré / plasma fluoré	Sang total citraté

Tableau 1 Les différents tubes du prélèvement

- Le citrate de sodium est un anticoagulant réversible chélateur de Ca²⁺, il entraine une décalcification du plasma.
- ❖ Le tube sec permet l'obtention du sérum après coagulation et centrifugation.
- ❖ L'EDTA est un anticoagulant irréversible qui capte les ions calcium, il permet la conservation des éléments figurés du sang (leucocytes, hématies, plaquettes ...).
- Le fluorure de sodium est un anti-glycolytique qui inhibe la consommation du glucose par blocage enzymatique.
- ❖ L'héparinate de lithium est un anticoagulant de type antithrombine, qui empêche la transformation du fibrinogène en fibrine.
- Le citrate de sodium (tube noir) est utilisé pour la détermination de la vitesse de sédimentation Vs.

Selon les analyses à effectuer, on choisit les tubes :

Rouge	Biochimie : glycémie ; urée ; cholestérol ; HDL ; ionogramme ;
	fer sérique ; cortisol.
	IMMUNOLOGIE SEROLOGIE: toxoplasmose, CMV, BW, HIV,
	Hépatite A, B, C
	HORMONOLOGIE : beta HCG ; FSH ; LH ; TSH ; testostérone
Violet (EDTA)	HEMATOLOGIE: NFS; VS; plaquettes; Réticulocytes;
	Hémoglobine glycosylée ; Test d'Emmel ; Electrophorèse de
	l'hémoglobine.
Tube citrate bleu	TP, TCA, TCK, les facteurs de la coagulation, Fibrinémie,
	Héparinémie
Tube héparine	Caryotype, calcium, magnésium globulaire, magnésium
	érythrocytaire, RAL , enzymes cardiaques
Tube citrate de sodium noir	VS
Tube FLuoro -Oxalate	Glycémie ; Alcoolémie ; Lactate

Tableau 2 : choix des tubes selon les analyses

♦ Procédure_de ponction veineuse

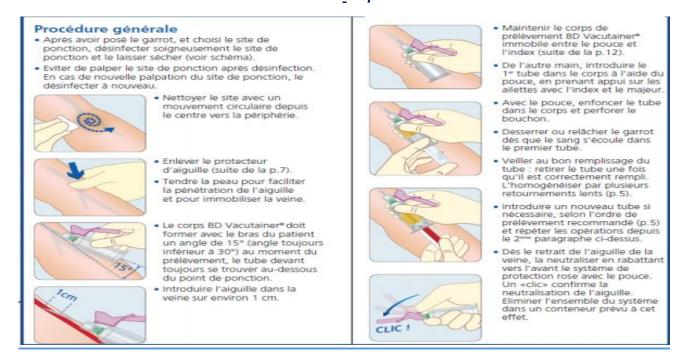


Figure 5: procédure de la ponction veineuse

♦ Ordre de remplissage

L'ordre de remplissage des tubes de prélèvement doit être conforme aux standards des procédures recommandées par le NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) pour tous les examens de diagnostics sanguins et doit être respecté car il peut être source d'interférences par transfert des additifs entre les tubes via l'aiguille ou le bouchon engendrant des difficultés d'interprétation des résultats. 1- Citrate (Coagulation) > 2- Tube Sec avec ou sans gel séparateur> 3- Héparine de lithium > 4- EDTA > 5- Fluorure de sodium.

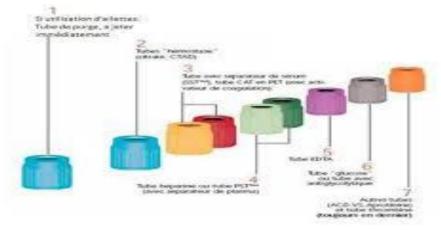


Figure 6: ordre du remplissage des tubes

*Ne jamais mélanger 2 tubes mal remplies entre eux pour en faire 1 bien rempli, car les activateurs de la coagulation ou les anticoagulants peuvent interférer sur certaines analyses.

*Ne jamais transvaser du sang d'un tube à l'autre.

* L'agitation des tubes après remplissage se fait par un simple retournement lent et majestueux du tube 5 à 10 fois.

b) Prélèvements urinaires

Le prélèvement de l'urine pour l'analyse médicale et très simple. Il suffit de faire uriner le patient dans un flacon stérile et ne pas oublier de l'étiqueter.

Le plus souvent les urines de 24h sont utilisées car la concentration des substances varient selon le nycthémère. On peut se contenter dans certains cas, d'un recueil effectuer sur un temps plus court (3, 6, 12h) et exceptionnellement d'un échantillon uni

4. Etiquetage des échantillons

Cette étape est potentiellement génératrice d'erreurs et doit être correctement maîtrisée. L'enregistrement des demandes est suivi de l'attribution d'un numéro de dossier unique et de l'édition d'une planche d'étiquettes autocollantes en rapport avec les analyses demandées. L'identification de l'échantillon se fait immédiatement après le prélèvement et sur le lieu même de celui-ci par collage des étiquettes spécifiques sur les échantillons correspondants. Elles comportent l'identification détaillée du patient, le numéro de dossier, la date de prélèvement, la nature de la demande et de l'échantillon.

Les échantillons avec les dossiers du patient (fiche de suivi, ordonnance ...) par les infirmiers au milieu d'analyses.

5. Tri des échantillons et prétraitement

Lorsque les techniciens du laboratoire reçoivent les échantillons, ils vérifient leur conformité /qualité (la concordance des informations portées sur la prescription, l'échantillon et le dossier patient, hémolyse, lipémie, volume de remplissage...). Ensuite on procède au prétraitement des échantillons biologiques. Les principales opérations de prétraitement sont la centrifugation pour l'obtention du sérum (généralement 4500 tour/min pendant 10min) et l'aliquote ; il s'agit de segmenter l'échantillon primaire dans un ou plusieurs contenants secondaires.

B. La phase analytique

Le processus technique permettant l'obtention d'un résultat d'analyse biologique.

1. Choix des méthodes

Le choix de la méthode d'analyses doit tenir compte de la nature des résultats recherchés.

On doit connaître les caractéristiques de performance interne d'une méthode analytique pendant la période considérée. Toute méthode analytique utilisée sur des substances à analyser doit être appliquée de manière cohérente accompagnée de procédure de contrôle de qualité.

2. Calibration et contrôle de qualité interne

Les calibrations permettent l'étalonnage des systèmes de mesure par rapport à des matériaux de référence adaptés. Elles permettent de remettre le ou les paramètres biochimiques aux valeurs normaux dans le cas où les contrôles prononces des résultats faux.

Le contrôle de qualité permet d'évaluer, de corriger et de valider le processus aboutissant au rapport des résultats d'analyse des patients. Les différents contrôles de qualité permettent au laboratoire de prouver que les valeurs d'analyse ont été obtenues avec une grande fiabilité.

N.B on peut avoir un contrôle ou bien un calibrateur spécifique d'un ou bien de plusieurs paramètres biochimiques

3. Exécution des analyses

La plupart des analyses sont réalisées en flux continu sur des automates. Les analyses urgentes sont signalées aux techniciens (information orale, étiquette spécifique, code informatique...) et bénéficient d'un traitement prioritaire (ordre de passage, avancement de séries...).

4. La validation technique

Elle est effectuée au poste de travail par le personnel technique habilité. Elle permet de saisir ou de transmettre des résultats sur le système informatique du laboratoire.

Avant d'accepter le résultat, le technologiste médical doit :

- S'assurer que les résultats du contrôle de qualité sont conformes.
- Vérifier les signaux d'alarme et les messages d'erreur générés instruments.

C. Phase post -analytique

C'est la phase de validation biologique et d'interprétation du résultat par le biologiste médical et de rendu de résultats auprès des cliniciens et des patients.

1. Validation biologique

La validation biologique est sous la responsabilité des biologistes.

La validation biologique est le contrôle de la vraisemblance et de la cohérence de l'ensemble des résultats biologiques contextualisés (antériorités, informations cliniques et thérapeutiques...) avant édition et transmission aux clients du laboratoire (patient, prescripteur, correspondant). Son importance est fondamentale car elle constitue la dernière étape du processus de validation et d'appréciation de la fiabilité des résultats avant leur communication.

2. Comptes rendus et transmission des résultats

Le rapport d'analyse est l'aboutissement final de tout le processus d'analyse. Le rapport d'analyse doit être lisible et ne comporter aucune erreur de transcription. Chaque rapport est constitué ainsi

- Un titre : (laboratoire Laalej d'analyses médicales.)
- Nom des biologistes co-responsables du laboratoire de Biologie médicale
- Le nom et l'adresse du site sur lequel est enregistré le dossier (avec numéros de téléphone, fax, site Web et adresse e-mail). θ Le nom (de naissance si possible, obligatoire si examens d'immunohématologie), le prénom, la date de naissance et l'adresse du patient.
- Le nom et l'adresse du prescripteur.

- Référence du dossier (indication unique du rapport d'essai), date et heure du prélèvement et de sa réception au laboratoire (date d'enregistrement, sauf exception avec mention de la date si différente) et de l'édition éventuelle.
- Numéro de page / nombre total de pages permettant d'assurer que la page fait effectivement partie du compte rendu et mention claire (dernière page) en fin de rapport
- Répartition des résultats par secteur analytique (Hématologie, ...) avec mention du type d'échantillon analysé.
- Pour chaque examen effectué, la méthode utilisée
- Les résultats sont généralement rendus en unités conventionnelles et Système International. En face ou à la suite de chaque résultat sont indiquées les valeurs de référence.
- Une aide complémentaire à l'interprétation des résultats est fournie chaque fois que possible et pertinent par le laboratoire sous diverses modalités : graphes, interprétation systématique ou contextuelle, incertitudes de mesure, réserves éventuelles, conclusion générale. Les interprétations sont référencées chaque fois que possible.
- La signature du biologiste manuscrite ayant validé en dernier le rapport avant édition ou transmission et en bas du rapport.

Selon les souhaits de nos patients ou correspondants médicaux, les comptes rendus et les résultats validés peuvent être communiqués selon différentes modalités : courrier, exemplaire à remettre en mains propres au médecin, téléphone, télécopie, messagerie sécurisée ou accessibles sur le serveur de résultats du laboratoire avec dans tous les cas prise en compte des impératifs de confidentialité

III. Contrôle de qualité analytique

la qualité au laboratoire peut être définie comme la justesse, l'exactitude et la fiabilité à propos des résultats des analyses . Ces derniers doivent être aussi précis que possible, tous les aspects des activités du laboratoire doivent être fiable et le rendu des résultats doit être correct afin d'être utilisé à des fins cliniques , diagnostiques et thérapeutiques ou de santé publique . A cet effet, le CQ est une composante essentielle du contrôle du processus et élément majeur pour la vérification de la qualité. Il contrôle les processus liés à la phase analytique et permet de détecter les erreurs de système d'analyse.

A. Différents types de CQ

1. Contrôle interne de qualité

Le CIQ, également appelé CQ intra laboratoire, est l'ensemble des procédures mises en œuvre dans un laboratoire en vue de permettre un CQ des résultats d'analyses au fur à mesure de leur exécution.

2. Contrôle externe de qualité

Le CEQ ou CQ inter laboratoires, ou encore EEQ, correspond au contrôle par un organisme extérieur de la qualité des résultats d'analyses biologiques fournis par un laboratoire. Il peut être national ou international. L'EEQ est un moyen efficace pour :

- L'information et la formation pour améliorer la performance
- L'identification des problèmes liés aux processus, aux techniques ou aux réactifs utilisés dans le laboratoire

B. Application du contrôle interne de qualité au sein du laboratoire

1. Objectif du CIQ

On peut résumer les objectifs en 2 grands axes :

- Contrôle de la calibration: la plupart des méthodes quantitatives sont régulièrement étalonnées, la conformité des résultats des échantillons de CIQ apporte la preuve de la maitrise de cette calibration. Les échantillons de patients ne peuvent être analysés qu'après la vérification de la conformité de l'étalonnage.
- Validation analytique : le CIQ permet le contrôle continu de la précision et de la reproductibilité des résultats. Il est indispensable pour déceler les anomalies et les erreurs des mesures afin d'y remédier immédiatement.

2. Matériel du contrôle

- Les contrôles sont des substances qui contiennent une quantité établie de la substance qui sera testée ; ils ont une matrice proche des échantillons (sérum) de patient pour que les erreurs détectées soient le reflet exact de celles qui se produisent avec les échantillons de patient.
- Les matériaux de contrôle sont disponibles sous différentes formes. Ils peuvent être congelés, lyophilisé, ou conservés chimiquement, et peuvent être acheté, obtenu auprès d'un laboratoire central ou de référence ou fabriqué au sein de laboratoire.
- Les lots doivent avoir une de longues périodes de péremption et stables pour pouvoir être utilisés pendant au moins une année.
- Le LBM de stage utilisé des matériaux de contrôle commercialisé par le fournisseur des automates dont la valeur est prédéterminée. Ils sont sous forme lyophilisé, doivent être reconstitué (la maitrise de cette étape pour assurer une concentration correcte de l'analyte).
- Les contrôles sont généralement disponibles en valeur normale et valeur anormale.

3. Méthode et fréquence de contrôle

Les contrôles sont effectués et testés en même temps et de la même façon que les échantillons biologiques. Ils doivent être utilisés à l'intérieur de chaque série. La fréquence du contrôle est définie par le biologiste selon la stabilité des paramètres et les réactifs utilisés.

Généralement, les contrôlés sont effectués chaque jour au début de la série analytique, certains paramètres nécessitent le contrôle au début et à la fin de la série.

Le diagramme de Levey-Jennings est utilisé pour la représentation des valeurs du contrôle

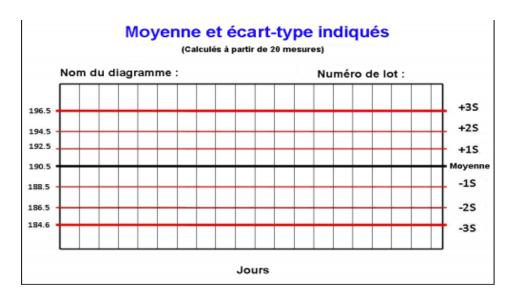


Figure 7 : diagramme de levey-Jennings

- ✓ L'allure du diagramme présente :
- La moyenne : C'est la valeur cible donné par le fabriquant du contrôle
- L'écart type(s) calculée à partir l'intervalle des valeurs acceptables fournit par le fabriquant $SD = \frac{max min}{r}$

L'écart type permet de décrire la dispersion d'une série de mesures autour de la valeur cible pour chaque échantillon de contrôle. Trois limites sont définies autour de la moyenne :

- Un écart type ;
- 2 SD (limites d'alertes)
- > 3 SD (limites de rejet)
- ✓ L'interprétation des résultats se fait selon les règles de westgard.

Règle d'alarme	Signification
1 ₂₅	Une seule valeur est en dehors des limites de 2S. cette réglé est considérée comme un avertissement.
415	4résultats consécutifs supérieure à 1S. Cette règle détecte les erreurs systématiques lié soit dans la courbe de calibration soit sur une zone de concentration plus large.
10 _x	7,8,9ou10 résultats de contrôle du même côté de la moyenne. Cette règle détecte les erreurs systématiques

Tableau 3 les différentes règles d'alarme

Règle de rejet	Signification
225	2 résultats consécutifs et du même côté de la valeur cible sont sup à ± 2 s. cette règle détecte les erreurs systématiques
135	Une seule valeur est en dehors des limites de \pm 3S; cette règle détecte les erreurs aléatoires inacceptables
R4S	Cette règle détecte les erreurs aléatoires

Tableau 4 les différentes règles du rejet

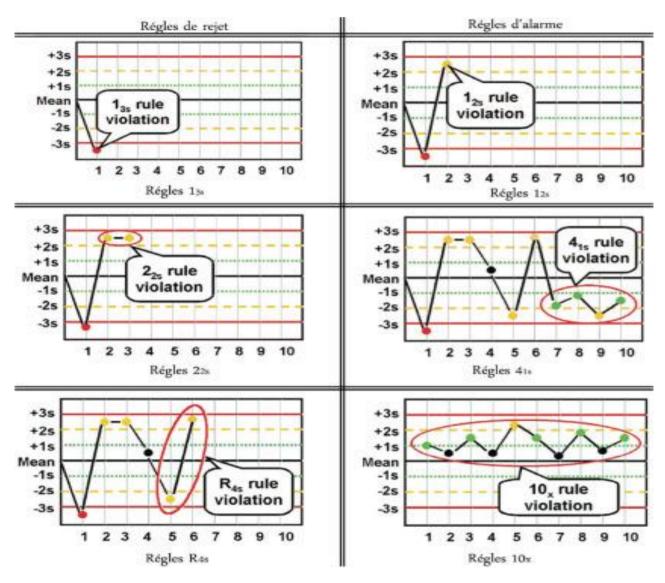


Figure 8 :les règles de Westgard

IV. Matériels et méthodes

A. Automate AU480

C'est un analyseur multiparamétrique entièrement automatique (incubation, mélange aux réactifs, dilution, calcul des résultat, CQ, calibration et maintenance ...), il permet le dosage des paramètres biologiques dans un liquide biologique sérum, plasma ou urine. Les techniques analytiques mise en œuvre sont la spectrophotométrie et la potentiométrie.

Sérum, plasma ou urine
60 tests photométriques et 3tests ISE
400 tests photométrique/h 200tests ISE /h
80 échantillons (8 portoirs)
37 °C
Bain sec
Cuvette
Table tournante
Microseringue
1 à25 μL
Spectrophotométrie /potentiométrie
Méthode point final/méthode cinétique/méthode par électrode ISE
340 à 800nm
Max 8 min 37s

Tableau 5 : Spécifications générales sur AU480



<u>Figure 9 : Automate Au480</u>

1. Principe de la spectrophotométrie

La spectrophotométrie est une méthode d'analyse qui permet de déterminer le taux d'absorbance d'une substance ayant des propriétés spectrales. Cette absorbance ou "D.O " dépend de la nature, la concentration de cette substance ainsi de la longueur d'onde à laquelle on l'étudie.

L'absorbance est mesurée par un spectrophotomètre ; l'appareil réalise une mesure de l'intensité de la lumière après son passage au travers d'une cuve contenant la solution à étudier. L'intensité de la lumière monochromatique émise (I₀) est connue ; à partir de la mesure de l'intensité de la lumière transmise (I), le spectrophotomètre donne l'absorbance.

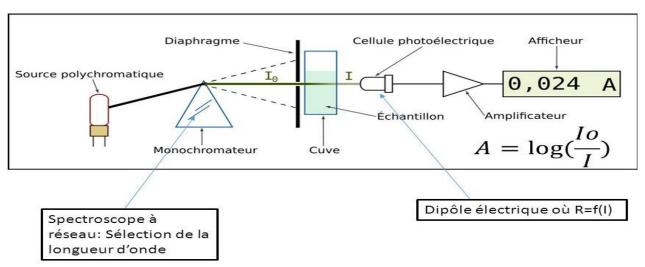


Figure 10 : Principe de la spectrophotométrie

La loi de Beer Lambert précise que l'absorbance dépend de façon proportionnelle à la concentration de la solution. Cette loi est vérifiée que pour les concentrations faibles

Pour déterminer la concentration d'une solution inconnue à partir de l'absorbance, on cherche d'abord maximale de la solution contenant l'espèce à doser en établissant le spectre $A = f(\lambda)$

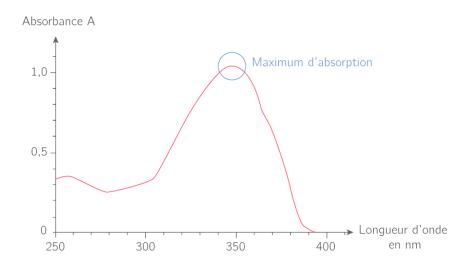
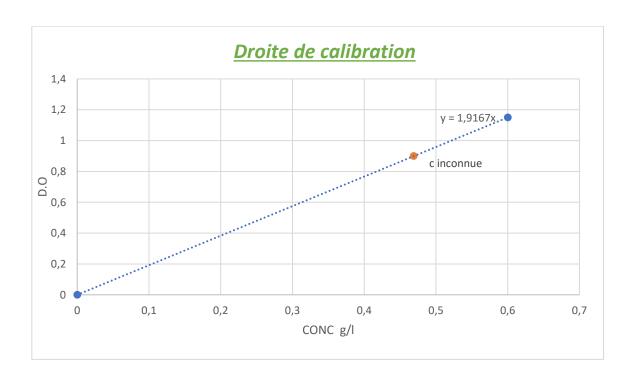


Figure 11: spectre d'absorbance

 A_{MAX} correspond à une longueur d'onde maximale λ_{max} . Le spectromètre sera réglé à cette longueur d'onde maximale λ_{max} .

A partir d'une solution contient l'espèce à doser de titre connue (calibrateur), on mesure l'absorbance et on établit la droite de calibration.

La concentration peut alors être déterminée graphiquement: l'absorbance de la solution de concentration inconnue est reportée en ordonnée et le point de la droite possédant cette ordonnée possède une abscisse ayant pour valeur cette concentration.

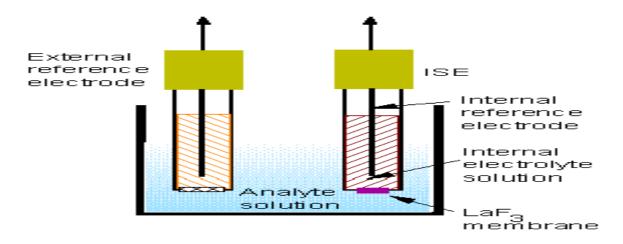


<u>Figure 12 : Droite de calibration</u>

2. Potentiométrie par ISE

Cette technique consiste à mesurer la différence de potentiel créée par la présence d'ions en solution entre deux électrodes. Une de ces deux électrodes est dite « de référence », ce qui implique, de par sa composition, une stabilité et une indépendance de son potentiel vis-à-vis de la composition de la solution. L'autre électrode dispose d'un matériau sensible envers l'ion à analyser. Cela signifie qu'elle possède des affinités chimiques réversibles avec une espèce cible, et son potentiel dépendra de l'activité de l'ion à doser.

L'electrode de travail est une electrode selective ions (ISE) .C 'est une electrode qui répond sélectivement à une seule espèce en solution, elle posséde une mince emembrane qui a pour role de séparer l'échantillon analysé du contenu de l'electrode . A l'intérieur de l'électrode se trouve une solution d'activité constante et connue du meme ion à analyser



<u>Figure 13 Principe de la potentiométrie</u>

Le signal électrique issu d'un système à électrode sélective est proportionnel au logarithme de l'activité de l'ion ciblé contenu dans la solution, et ce, suivant la loi de Nernst :

$$E = E_0 + \frac{RT}{nF} \ln(a)$$

- E est le potentiel entre les deux électrodes, exprimé en Volts
- ➤ E0 correspond à la contribution du potentiel de l'électrode de référence, ainsi que du potentiel d'équilibre de la demi-cellule sensible, exprimé en Volts
- R est la constante des gaz parfaits ;
- T la température ; v la valence de l'ion mesuré
- F la constante de Faraday;
- A l'activité de l'ion ciblé.

Le potentiel E est alors une fonction linéaire du logarithme de l'activité A de l'ion ciblé. L'activité A et la concentration C d'un ion sont liées par le coefficient d'activité γ tel que : $A = \gamma C$.

Cette activité représente le rapport entre ions "actifs" et ions "libres". Ainsi, dans une solution très diluée, les ions sont libres de se déplacer dans toutes les directions. Lorsque la concentration augmente, ils se rapprochent et leur charge engendre des interactions mutuelles : leur activité diminue. L'activité ne dépend donc pas que de la propre concentration de l'ion ciblé, mais

également de celle des autres ions présents dans la solution, et donc, de sa force ionique. Cette notion est particulièrement importante car, suivant la méthode de mesure choisie, il est possible d'assimiler (ou pas) l'activité à la concentration. En effet, les mesures d'échantillons sont réalisées de deux manières différentes : soit sur un échantillon dilué (potentiométrie indirecte), soit sur un échantillon pur (potentiométrie directe). Dans le cas de la potentiométrie indirecte, l'échantillon est dilué dans une solution dont la force ionique est connue, ce qui permet de doser la concentration d'ions comme le sodium dans des milieux dont la force ionique est très variable, comme par exemple, dans les urines. Cependant, il faut garder à l'esprit que l'activité de l'ion mesuré est alors différente de celle de son milieu original. Dans le cas de la potentiométrie directe, l'activité vraie de l'échantillon est mesurée. A titre d'exemple, pour un dosage ionique dans le plasma sanguin, qui contient un volume d'eau représentant 93% du volume plasmatique, les mesures seront environ 7% supérieures à des mesures effectuées par potentiométrie indirecte. Le problème réside dans l'habitude qu'ont les cliniciens à utiliser des valeurs issues de mesures par potentiométrie indirecte, qui nécessitent des corrections en fonction du volume plasmatique vrai, ceci afin d'éviter, à titre d'exemple, le diagnostic de fausses hyponatrémies (concentrations en ions sodium dans le plasma anormalement basses).

B. Automate HLC-723GX

Le GX est destiné au dosage de l'HbA1c par rapport à la quantité totale d'hémoglobine dans le sang sur la base du chromatographie liquide à haute performance HPLC associé à un échangeur d'ions cationiques non poreux utilisant la différence ionique.



Echantillon concernés	Sang total ou dilué
Principe de dosage	HPLC par échange ions
Vitesse de traitement	2,2min/échantillon
Volume d'échantillonnage	3 μL pour le sang total
	120 μL pour échantillon dilué
Capacité	10 échantillons
Nature de la phase stationnaire	Résine chargée négativement

<u> Tableau 6 : Spécifications générales sur GX</u>

♣ Principe HPLC:

La chromatographie est une méthode physico-chimique qui sert à séparer les différents substances présentes dans un mélange en les faisant migrer, sur une phase immobile, par une phase mobile.

Les composés à séparer sont mis en solution dans un solvant. Ce mélange est introduit dans la phase mobile liquide (éluant). Suivant la nature des molécules, elles interagissent plus au moins avec la phase stationnaire dans un tube appelé colonne chromatographique.

La phase mobile poussée par une pompe sous haute pression, parcourt le système chromatographique. Les composés en solution se répartissent alors suivant leur affinité entre la phase mobile et la phase stationnaire. En sortie de colonne grâce à un détecteur appropriés les différents solutés sont caractérisés par un pic. L'ensemble des pics enregistrés est appelé chromatogramme.

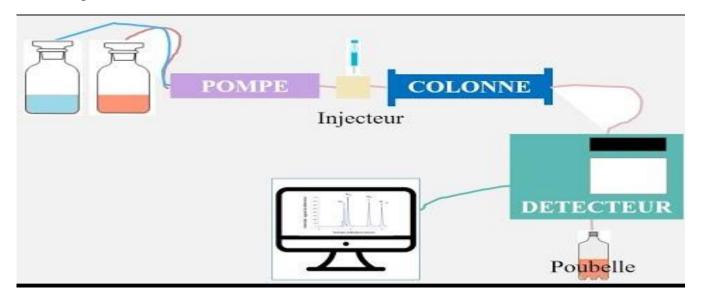


Figure 14 Principe de HPLC

Le schéma général de l'organisation d'un appareillage est donné dans la figure ;

- ❖ Un réservoir de solvant (éluant) qui contient la phase mobile en quantité suffisante. Plusieurs flacons d'éluant (solvants de polarités différentes) sont disponibles pour pouvoir réaliser des gradients d'élution (mélange de plusieurs solvants à des concentrations variables) à l'aide de la pompe doseuse.
- ❖ La pompe : permet de propulser la hase mobile en assurant la pression nécessaire. Un piston aspire le solvant du réservoir et l'envoie dans le système. Elle est munie d'un système de gradient permettant d'effectuer une programmation de la nature du solvant. C'est-à-dire avec une variation de la concentration des constituants du mélange d'éluants.
- ❖ Injecteur : il comporte une vanne à boucle d'échantillonnage d'une capacité fixe. Cette boucle permet d'introduire l'échantillon sans modifier la pression de la colonne.

La colonne : est un tube construit dans un matériau le plus possible inerte aux produits chimiques, souvent en inox ou en verre. La colonne contient la phase stationnaire qui est un support plus ou moins poreux recouvert d'un gel (liquide greffé) qui a les propriétés désirées pour retenir les molécules de solutés.

❖ Détecteur suit en continu l'apparition des solutés, le détecteur le plus utilisé est un spectrophotomètre relié à la sortie de la colonne.

L'application de la chromatographie est basée sur la notion comme donnée comparative entre molécules. Pour qu'il y ait séparation chromatographique de composés, il faut que leurs molécules interagissent de manières différentes avec au moins une des phases ; ces phases doivent avoir des polarités différentes.

Le but est de déterminer la quantité d'un composé dans le mélange. Cette analyse est basée sur le fait que l'aire des pics chromatographiques est proportionnelle à la concentration ou à la quantité de produit analysé. Cette analyse peut être réalisé par étalonnage externe.

Il est nécessaire de disposer d'une quantité suffisante du produit afin de faire une courbe d'étalonnage Aire = f (masse ou concentration du produit), pour un volume injecté constant V. L'injection ultérieure du même volume V de l'échantillon à doser permet, à l'aide de la mesure de l'aire du pic reportée sur la courbe d'étalonnage.

C. Paramètres biochimiques à doser

Les paramètres biochimiques sur lesquelles on va travailler sont :

- La glycémie
- L'urée
- La créatinine
- Les hémoglobines glyquées

Pour les 3 premiers paramètres : le sang est prélevé dans un tube sec (rouge) , on le centrifuge pendant 10 min (4500tours/min) pour récupérer le sérum ou plasma .



Figure 15 : La centrifugation

Pour les hémoglobines glyquées, on dose le sens total récupéré sur un tube EDTA.

1. La glycémie

a) Intérêt du dosage

La glycémie est la concentration de glucose dans le sang, ou plus exactement dans le plasma sanguin ; elle est mesurée en général en mmol/, mg/dl ou g /l.

Le but de ce dosage est pour faire un dépistage d'un hyper ou hypoglycémie et aussi pour le contrôle du diabète.

Les valeurs normales sont :

Hypoglycémie Inférieur à 0.60g/l

Glycémie normale A jeun : entre 0.70g/l et 1.10g/l

1h30 après un repas : inférieur à 1.40g/l

Hyperglycémie à jeun Supérieur à 1.10g/l

b) Principe du dosage

L'hexokinase (HK) catalyse la phosphorylation du glucose par ATP en glucose-6-phosphate (G6F). Le glucose-6-phosphate créé est réduit en 6-phosphogluconate en présence de glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6F-DH) avec réduction parallèle de NAD en NADH, La quantité NADH qui prend naissance correspond à la quantité de glucose-6-phosphate et donc à celle de glucose.

Les réactions mises en jeu sont :

Les réactifs utilisés sont les suivants :

Tampon PIPES	24mmol/l (PH=7,6)
ATP	≥ 2,0 mmol/L
Mg ²⁺	2,37 mmol/l
NAD ⁺	≥ 1,32 mmol/L
Hexokinase	≥ 0,59 KU/L
G6P-DH	≥ 1,58 KU/L
Conservateur	

Tableau 7:Réactifs GLY

R1: tampon, ATP, NAD, Mg R2 HK, G6P-DH

Les réactions sont :

C'est un test UV enzymatique, le principe de dosage est de suivre la production /disparition des coenzymes d'oxydo-réduction dans la réaction qui présente un maximum d'absorption à 340nm, soit dans le domaine UV.

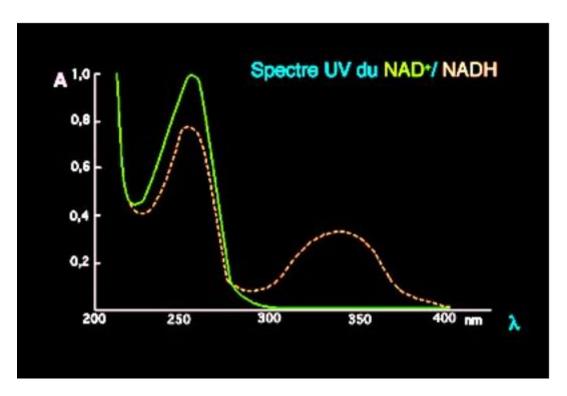


Figure 16 : Spectre d'absorption NAD+/NADH

Sur ce graphe on a représenté l'absorption de la lumière ultraviolette en fonction de la longueur d'onde, pour des solutions de NAD⁺ en trait plein vert et de NADH en tirets discontinus A 340 nm, le NADH absorbe fortement la lumière alors que le NAD⁺ ne l'absorbe pas du tout.

Dans le cas du dosage du glucose, la réaction enzymatique évolue dans le sens de la réduction de NAD⁺, donc on va suivre l'augmentation de la D.O.

L'appareil utilise la méthode du point final pour déterminer la D.O, on attend le temps nécessaire pour que la réaction enzymatique soit terminée ; la mesure donne la valeur de la concentration en substrat par comparaison avec la droite de calibration. Les résultats sont exprimés par g/l.

2. L'urée

a) Intérêt du dosage

L'urée représente environ 90 % de l'azote urinaire total chez l'adulte. Elle est produite en grande partie par le foie et une faible partie par les reins. Le taux d'urée dépend à la fois de la fonction rénale, des apports alimentaires protéiques, de la destruction des protéines de l'organisme, de l'âge et de l'état d'hydratation de la personne.

Le dosage de l'urée est prescrit pour évaluer la fonction rénale et notamment lorsqu'une insuffisance rénale est suspectée. Cet examen permet aussi de surveiller la fonction rénale des personnes atteintes de diabète ou ayant subi un infarctus du myocarde .

Les valeurs normales sont : 0,1 à 0,5 g/l.

b) Principe de dosage

L'urée est hydrolysée en présence d'eau et d'uréase ; cette réaction produit de l'ammoniac et du dioxyde de carbone. L'ammoniac produit au cours de la première réaction se lie au 2-oxoglutarate et au NADH en présence de la glutamate déshydrogénase (GLDH) pour former du glutamate et

NAD⁺. La baisse de l'absorbance de NADH par unité de temps est proportionnelle à la concentration en urée.

Les réactifs utilisés sont :

Tampon tris	100mmol/l
2-oxolutarate	≥ 9,8mmol/l
Uréase	≥ 17,76 KU/L
ADP	≥ 2,6mmol/l
GLDH	≥ 0,16 KU/L
NADH	≥ 0,26mmol/l

Tableau 8 : Réactifs urée

Les réactions mises en jeu sont :

La réaction enzymatique évolue dans le sens d'oxydation de NADH. On va suivre la vitesse de disparition de NADH (diminution de la D.O)

3. La créatinine

a) Intérêt du dosage

La mesure du taux sanguin de la créatinine, ou créatininémie, permet d'explorer la fonction rénale. La créatinine est le produit de la dégradation de la créatine, protéine indispensable pour la production d'énergie par les muscles.

En temps normal, la créatinine est transportée par le sang puis éliminée par les reins, dans les urines. L'augmentation de ce taux dans le sang signifie que la fonction rénale est altérée.

Les valeurs normales sont : 9 à 13 mg/l pour un homme et 7 à 10 mg/l pour une femme.

b) Principe du dosage

En milieu alcalin, la créatinine forme avec le picrate un complexe jaune orangé. Le taux de changement de l'absorbance à 520 / 800 nm est proportionnel à la concentration en créatinine de l'échantillon.

La composition des réactifs est :

Soude caustique	120 mmol/L
Acide picrique	2,9 mmol/L

La réaction est :

$$O_2$$
 O_2 O_2 O_2 O_3 O_4 O_4 O_5 O_4 O_5 O_5

C'est un test colorimétrique cinétique, on suit la variation du complexe coloré au cours du temps.

La méthode en point fixe détermine la valeur de la densité optique en deux points photométriques spécifiés. Les mesures sont effectuées en ces deux points photométriques après le début de la réaction entre l'échantillon et le réactif. Valeur d'D.O de la réaction = D.O_B - D.O_A

4. Dosage de HbA1c

a) Intérêt du dosage

L'hémoglobine glyquée (ou HbA1c) permet **d'**évaluer l'équilibre de la glycémie au cours des 3 derniers mois. Ce dosage témoigne également des risques de complications à long terme. On peut considérer l'hémoglobine glyquée comme **la** mémoire du contrôle glycémique, contrairement à la glycémie qui apporte une information à un instant donné. Plus le taux de sucre présent dans le sang a été élevé lors des trois derniers mois, plus la valeur de l'hémoglobine glyquée sera élevée.

b) Principe du dosage

Le dosage de l'hémoglobine glyquée est réalisé par une méthode d'HPLC sur résines d'échanges cationiques et de tampons de formes ioniques et/ou ph différents.

La séparation dans cette méthode est basée sur la plus grande électronégativité des hémoglobines glyquées ; la fixation de glucose sur l'extrémité N-terminale de l'Hb entraine un changement de conformation et une augmentation de sa charge négative par rapport à celle de HbAO.

Les échantillons de sang total sont dilués avec un réactif d'hémolyse permettent de libérer l'hémoglobine contenue dans les globules rouges. L'hémolysât est ensuite injecté dans une colonne de résine chargée négativement. Les groupements chargés négative de la phase stationnaire interagissent avec les cations dans l'échantillon. Un gradient de tampon programmé de force ionique croissante (phase mobile) est délivré à la colonne ce qui permet de décrocher successivement les différentes molécules en fonction de leur interaction ionique avec le matériau de la colonne. t. On élue d'abord les hémoglobines rapides : HbA1a, HbA1b, HbA1c puis la fraction principale HbA0.

Les Hb séparées seront quantifiées par une mesure spectrophotométrique.

Hémoglobine	Structure
HbA0	Deux chaines protéiques α et β non glyquées
HbA1c	Glucose fixé sur le NH_2 terminal du résidu valine situé à l'extrémité de la chaine de la chaine β
HbA1A1	Fructose-1-6 diphosphate fixé sur le NH2 terminal du résidu valine situé à l'extrémité de la chaine β
HbA1b	Acide pyruvique fixé sur le NH_2 Terminal du résidu valine situé à l'extrémité de la chaine β
HBA1A2	Glucose -6- phosphate fixé sur le NH_2 terminal du résidu valine situé à l'extrémité de la chaine β
Hb glyquées diverses	Hb glyquées sur différents acides aminés des chaines α et β de l'HbA
HBA2	Deux chaines protéiques α ς non glyquées
HbF	Deux chaines α et Υ non glyquées

Tableau 9 : Différentes fractions d'hémoglobine

c) Expression des résultats

Les diverses fractions de l'hémoglobine donnant des pics correspondant à chaque fraction sur le chromatogramme.

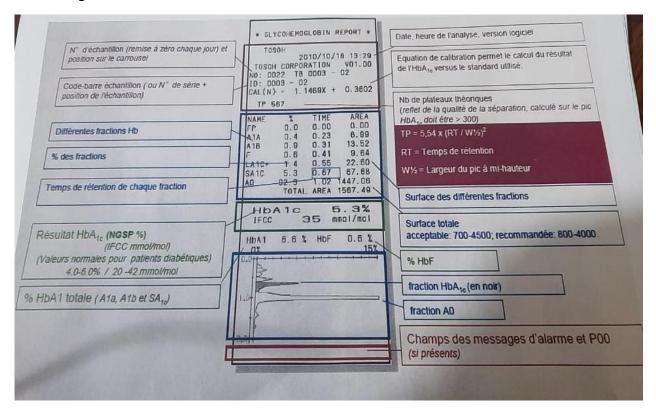


Figure 17 : légende d'un chromatogramme

V. Résultats et discussions

On va traiter quelques exemples des résultats des paramètres étudiés. Ainsi que le processus de validation des résultats.

A. La glycémie

L'appareil effectue des mesures régulières qui permettent d'obtenir une courbe de réaction dont un exemple est donné ci-dessous :

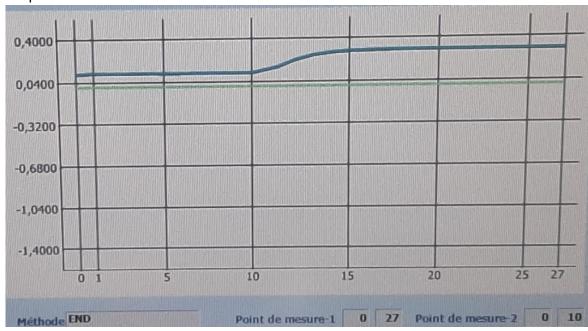


Figure 18 : Suivi réactionnel : Gly

Au point 0 ; L'échantillon (E) est placé dans une cuvette de réaction, la solution de travail R1) est ensuite introduite dans la cuvette. Un temps de latence est alors observé, afin de garantir la stabilité de l'absorbance. Au point 10 La solution de travail R2 est ajoutée, et la réaction se déclenche., on attend le temps nécessaire pour que la réaction enzymatique soit terminée et on prend la valeur de l'absorbance dans ce cas D.O = 0,1993. On la comparant avec la droite de calibration, l'appareil donne la valeur concentration Gly= 0,84

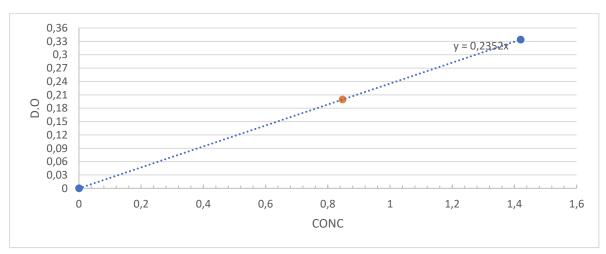


Figure 19 : droite de calibration Glycémie

Ce résultat du patient peut être utilisé ou non selon les résultats du contrôle :

La valeur cible : 0,968L'écart type : 0,0750

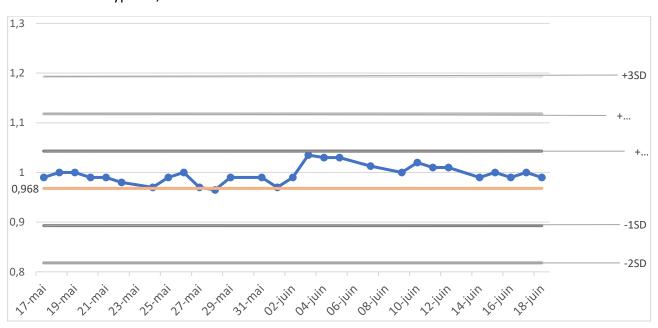


Figure 20 : Carte du contrôle : Glycémie

Les résultats des échantillons sont utilisables car tous les résultats du contrôle journalier sont conformes, ils ne dépassent pas ± 1 SD. La glycémie étant paramètre stable, tous résultats du contrôle hors cette zone nécessitent des actions correctives.

B. La créatinine

 L'appareil effectue des mesures régulières qui permettent d'obtenir une courbe de réaction dont un exemple est donné ci-dessous :

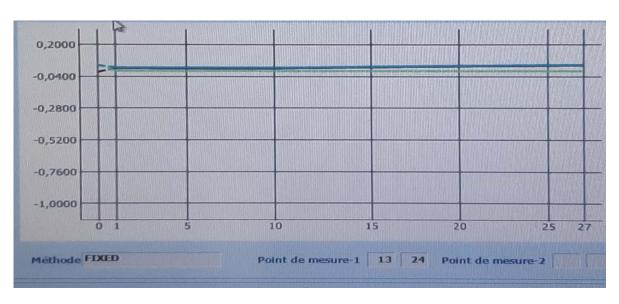


Figure 21: suivi réactionnel :créa

Dans cet exemple la D.O est déterminée à partir des 2 points photométriques 13 et 24, la valeur D.O de la réaction = $D.O_{24}$ - $D.O_{13}$ =0,0148.

La mesure donne la valeur de la concentration en substrat par comparaison avec la droite de calibration. La concentration est égal à 9,38

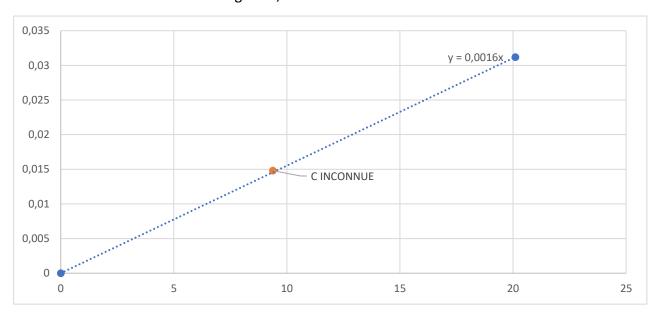


Figure 22 : Droite de calibration Créa

Les résultats du contrôle durant 1 mois sont les suivant :

La valeur cible : 13L'écart type :1,45

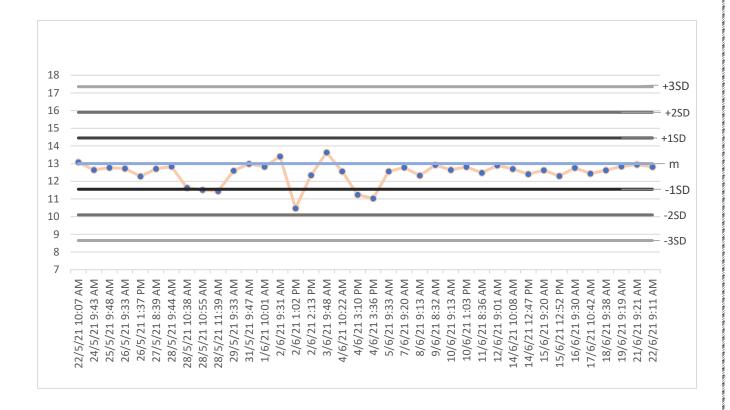


Figure 23 : Carte du contrôle Crea

Du 22 du 27 mai les résultats du contrôle sont conformes, les résultats des échantillons sont utilisables.

Le 28 mai : un contrôle au début de la journée est conforme, après certain temps on a remarqué que les résultats des patients sont anormaux ; un repassage du contrôle est nécessaire, les 3 résultats de la même journée sont sur la limite de -1 SD, les résultats des patients sont corrigés selon la formule suivante :

Résultat corrigé = résultat obtenu * Valeur du controle valeur du patient

Le 02 juin : un contrôle au début de la journée est conforme. Un autre contrôle à midi est proche du seuil d'alarme, les résultats sont rejetés et une calibration est nécessaire pour rendre les valeurs du contrôle conformes.

Le 04 juin : 3 contrôles sont analysés ; le premier est conforme, les 2 restants sont en dessous de la limite -1SD, le technicien doit changer les réactifs : les résultats sont corrigés de la manière précédente. Ils ne sont pas rejetés.

C. L'urée

L'appareil effectue des mesures régulières (p) qui permettent d'obtenir une courbe de réaction dont un exemple est donné ci-dessous :

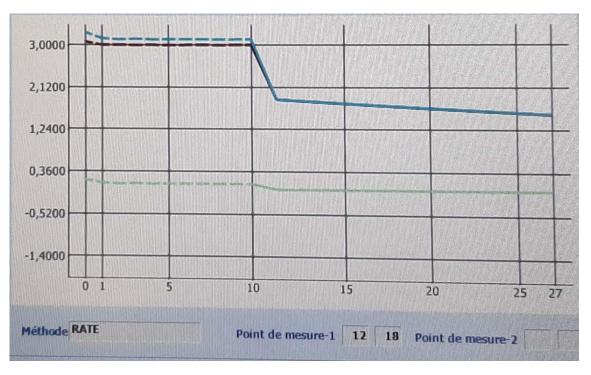


Figure 24 : Suivi réactionnel urée

L'appareil mesure de la variation de la D.O entre les 2 points photométriques 12 et 18 : D. O=0,0629, en la comparant avec la droite de calibration, on obtient la concentration =0,441g/l.

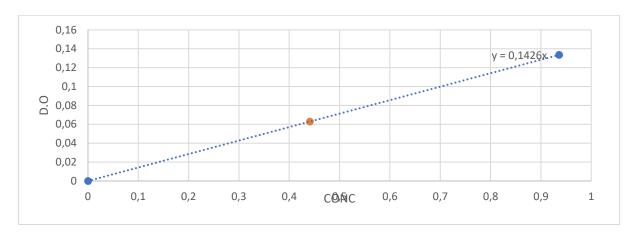


Figure 25 droite de calibration urée

Les valeurs du contrôle sont représentées comme suit :

La valeur cible : 0,407L'écart type :0,045

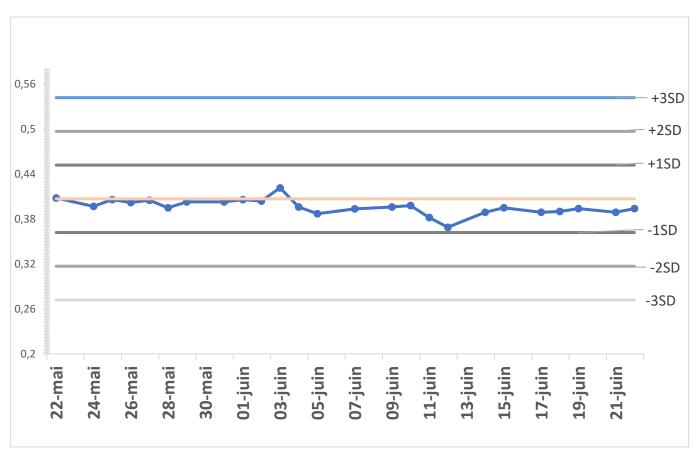


Figure 26 : Carte du contrôle urée

Les résultats sont situés autour de la valeur de base et \pm 1SD, les valeurs sont conformes et les résultats des patients sont utilisables.

D. Hba1c

Les résultats présentent un sujet normal et l'autre anormal, les pics sont fins et ne présentent pas des anomalies, aucun pic de temps de rétention supérieur à celui de HbA₀, les résultats sont reportables.

Les valeurs normales pour patients diabétiques : 4 -6 % (20-42mmol/I)

La qualité des résultats est basée sur le temps de rétention des HbA1c qui doit être compris entre 0,66 et 0, 72.les pics du chromatogramme sont fins et sans anomalies.

En raison du prix élevé et la courte durée de stockage du contrôle, le laboratoire compte sur la comparaison des résultats du même patient avec d'autres LAM. Par exemple, six laboratoires ont participé : à partir des 6 résultats, on calcule la moyenne, les écart type, puis on représente les résultats sur le diagramme de levey-Jennings, puis on définit les résultats sous contrôle et les résultats situés dans la zone d'alarme.

Les résultats générés par l'appareil sont les suivants :

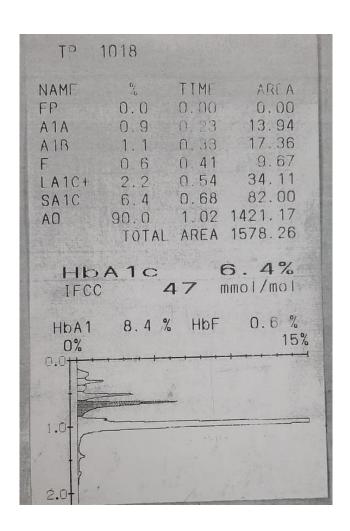




Figure 27 : Résultats des patients : HbAlc

Conclusion

D'après les cartes analysées, et le profil du chromatogramme, les résultats des patients sont corrects, ils peuvent d'être rendus.

La fiabilité et la conformité des résultats ne consistent pas qu'au suivi journalier des contrôles, et la gestion des calibrages ; mais aussi à la maitrise de tous les processus d'analyses médicales depuis la réception du client, le prélèvement (volumes conformes, maitrise de la ponction, utilisation du garrot) jusqu'à rendu des résultats

Malgré l'automatisation des laboratoires de biochimie, la manipulation existe toujours. Elle se manifeste dans le triage et la centrifugation des tubes, La correction des résultats citée précédemment.

Références:

- Manuel de laboratoire, guide pratique à l'usage des techniciens de laboratoires dans des contextes à ressources limitées, édition 2018
- Annexe au Concept d'assurance qualité dans le laboratoire médical (Concept QUALAB) :
 Contrôle de qualité interne Version 2.5 (18.4.2013)
- LABORATOIRE D'ANALYSES MEDICALES MULTI-SITES VIALLE. MANUEL QUALITE Version 22
- Le Guide de prélèvement : 39-CGB-PREL-MQ-001/02 mise à jour le 09.01.2015
- Accueil des patients : Ref : C2/P-LAB-003 Version : 01 Applicable le : 23-06-2017
- EVALUATION DU CONTROLE DE QUALITE DES ANALYSES BIOMEDICALES DANS LES LABORATOIRES PRIVES ET PUBLICS D'ABIDJAN : THESE pour l'obtention du doctorat en médecine . Présentée el soutenue publiquement le 15 Avril 1999 par ASSI KACOU Héloîse
- http://biotech.spip.ac-rouen.fr/spip.php?article9: HPLC Principe et appareillage
- Développement de microcapteurs chimiques intégrés pour la détection de l'ion sodium en phase liquide: application au suivi du stress physiologique :Thése en vue de l'obtention du doctorat de l'université de TOULOUSE ,présenté et soutenue par Arnoud Gazalé
- Mesure de l'activité enzymatique DR AKSAS
- Introduction au laboratoire de biochimie médicale :Professeur Ambroise MARTIN DOCUMENT 1995- Revue Janvier 2006
- Lubert Stryer, Jeremy Mark Berg, John L. Tymoczko (trad. Serge Weinman), Biochimie, éditions Flammarion