

Université Sidi Mohammed Ben Abdallah

Faculté des Sciences et de Techniques

Fès



Ministère de la santé

Institut National d'Hygiène

Rabat



PROJET DE FIN D'ETUDES

Licence Sciences et Techniques

En

Biologie et Santé

Dépistage néonatal de l'hypothyroïdie congénital chez les nouveau-nés dans la région de Rabat Salé Zmour Zaire

Présentée par : M^{elle} AZAMI IDRISSI Hajar

Encadré par :

- ❖ **Mr. HALOTI Saïd** : Professeur à la FST Fès
- ❖ **M^{me}. TANTANE Asmae** : Ingénieur d'état à l'INH Rabat
- ❖ **Mr. SAOUIFI Mohammed** : Assistant médical à l'INH Rabat

Soutenu le : Vendredi 15 Juin 2012 à 10 :45.

Devant le jury composé de :

- ❖ **Professeur HALOTI Saïd** : Président
- ❖ **Professeur SEFRIQUI** : Examineur
- ❖ **Mr. SAOUIFI Mohammed** : Examineur

Remerciement

Il m'est agréable d'adresser mes remerciements et ma gratitude envers tous ceux qui m'ont fait profiter de leur expérience scientifique et de leur soutien moral.

*Je tiens tous d'abord à remercier **Mr. le professeur Said HALOTI** que nous avons toujours été marqués par ses qualités, son profond respect, et je lui dis que je suis fière parce-que vous avez accepté l'encadrement de mon travail.*

*Je remercie Pr. **Rajae EL OUAD** la Directrice de l'Institut National d'Hygiène, qui m'a donné l'opportunité de faire un stage pratique au sein de son institut.*

*Je remercie très vivement et avec un grand respect **Mm. Asmae TANTANE**, chef de Département de Biochimie qui m'a donné l'opportunité de faire un stage pratique au sein de son Laboratoire et Mr. **Mohammed SAOUIFI** pour leur encadrement.*

*Je remercie aussi **Mm S.TOK, N.CHERRADI, F.ANSISSE, R. BENERRADI** et **N. ATOBI** pour leur excellent encouragement, et leurs conseils pratiques qu'elles m'ont apportés.*

Dédicace

Je dédie ce travail :

A ma mère

Que le bon dieu t'accorde santé et longue vie

A la mémoire de mon père

Que dieu t'accorde sa miséricorde et t'accepte dans son paradis

A mon cher oncle Abdellatif SAFFI

Que ce mémoire représente pour toi l'expression de mon amour, ma reconnaissance, les conseils que tu n'as cessé de me prodiguer

A mes sœurs

Fadila, Aicha, Latifa a leurs maries et enfants, a Olaya, et Salma votre amour et votre compréhension m'ont aidé énormément

A mes amis(es)

EL GZIRI Fatiha, CHHBAR Siham, SMAILI Mohammed Amine, H. Sidi Ammi, M. Fatima, A. Akhana, M. Elachhbe, Ilham ARHOUNE, J. Bendarhou, et a toutes fidèles amis je vous souhaite la réussite aussi bien dans votre vie familiale que professionnelle

L'Institut National d'Hygiène

L'INH du Maroc a été inauguré le 30 décembre 1930 à Rabat par le **Professeur Léon BERNARD, Président du Conseil Supérieur d'Hygiène de France**, sous la présidence de **Mr Lucien SAINT, Résident Général de la République Française au Maroc** dans le but de prendre en charge les problèmes d'hygiène et d'épidémiologie des maladies transmissibles du Maroc et de diffuser les notions élémentaires de l'hygiène et de la prophylaxie pour protéger la santé de la population.

L'Institut National d'Hygiène est sous la tutelle du Ministère de la Santé et constitue l'organe de référence en matière de biologie médicale et environnementale.

Cette instance étatique œuvre depuis 1930 à garantir une prise en charge efficace des problèmes d'hygiène et d'épidémiologie au Maroc.

Son champ d'intervention est très vaste et ses laboratoires jouent le rôle de support technique et scientifique aux différents programmes sanitaires tels la tuberculose, le paludisme, la bilharziose, les leishmanioses, les méningites, les maladies entériques, le choléra, les salmonelloses, les infections sexuellement transmissibles, l'infection VIH, la poliomyélite la rougeole et la grippe.

L'INH assure également l'expertise technique en matière d'hygiène alimentaire, de toxicologie de l'environnement, et dans le domaine médico-légal.

Parallèlement à ses activités de laboratoires, l'Institut contribue à la formation de médecins et de pharmaciens biologistes, de scientifiques pour leurs travaux de recherches dans le cadre des préparations des DESA et des Doctorats Nationaux, de techniciens de laboratoires et d'infirmiers que ce soit dans le cadre de la formation de base ou de la formation continue.

Ses 75 ans d'existence sont dédiés à la recherche et la mise en place d'outils garantissant le développement des techniques de biologie médicale et environnementale servant de base pour le diagnostic médical, la surveillance épidémiologique, le contrôle de la qualité d'hygiène communautaire et de la sécurité sanitaire au Maroc.

L'INH a ainsi contribué à l'éradication de la peste, de la variole et du typhus et au contrôle des maladies entériques, de la tuberculose et du paludisme.

Ressources humaines

267 personnes assurent les activités de L'INH.

70 % d'entre eux sont de hauts cadres scientifiques.

Ils comptent:

des Professeurs Universitaires,

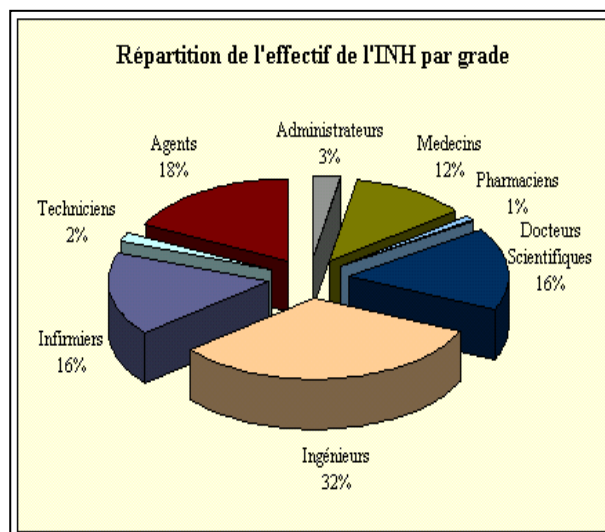
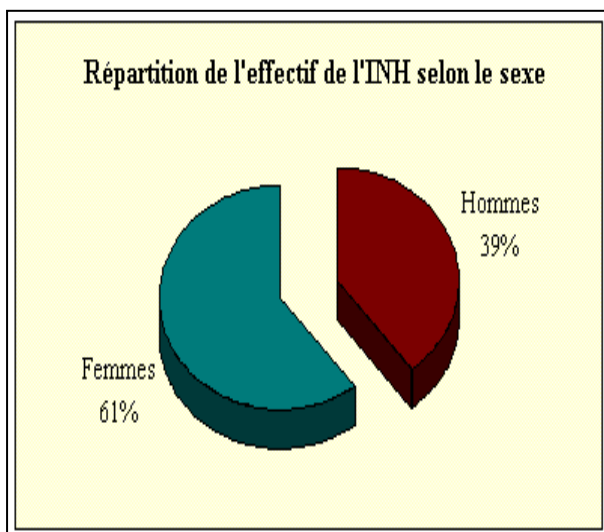
des Médecins et Pharmaciens Biologistes,

des Scientifiques Chercheurs,

des Ingénieurs,

des Techniciens et des Infirmiers

En plus du staff administratif



Données de l'administration. Année 2003

Ces équipes opèrent dans les différentes disciplines suivantes :

- **Biologie Médicale**

la Parasitologie, la Bactériologie, l'Immunologie, la Virologie,

la Biochimie, l'Hématologie, la Génétique médicale,

l'Anatomopathologie, la Toxicologie médicale et médico-légale.

- **Biologie Environnementale**

La Toxicologie alimentaire, la Toxicologie environnementale, l'Hydrologie, la Bromatologie, la Microbiologie alimentaire, l'Entomologie.

- **Domaine de la vigilance**

La Pharmacovigilance, la Toxicovigilance, l'Observatoire national des micro-organismes pathogènes pour l'Homme.

Les départements

Anatomopathologie

Bactériologie Médicale

Biochimie Hématologie

Biologie Moléculaire

Bureau des Laboratoires

Centre Antipoison et Pharmacovigilance

Génétique Médicale

Microbiologie des Eaux et des Aliments et

Hygiène Alimentaire

Immunologie - Virologie

Parasitologie - Mycologie

Toxicologie - Hydrologie

Département de Biochimie Hématologie :

Le laboratoire de Biochimie de l'Institut National D'Hygiène assure récemment:

- l'activité du dépistage néonatal de l'Hypothyroïdie Congénitale dans le cadre de la phase pilote du lancement du programme de cette prestation,
- formation des stagiaires de l'IFCS, et des différentes facultés des sciences,
- Coordination en Qualité dans le cadre de la démarche de certification iso 9001 de L'INH,
- Coordination en Informatique dans le cadre de la mise en place d'un système d'informatisation LIMS,
- Coordination en Hygiène et Biosécurité.

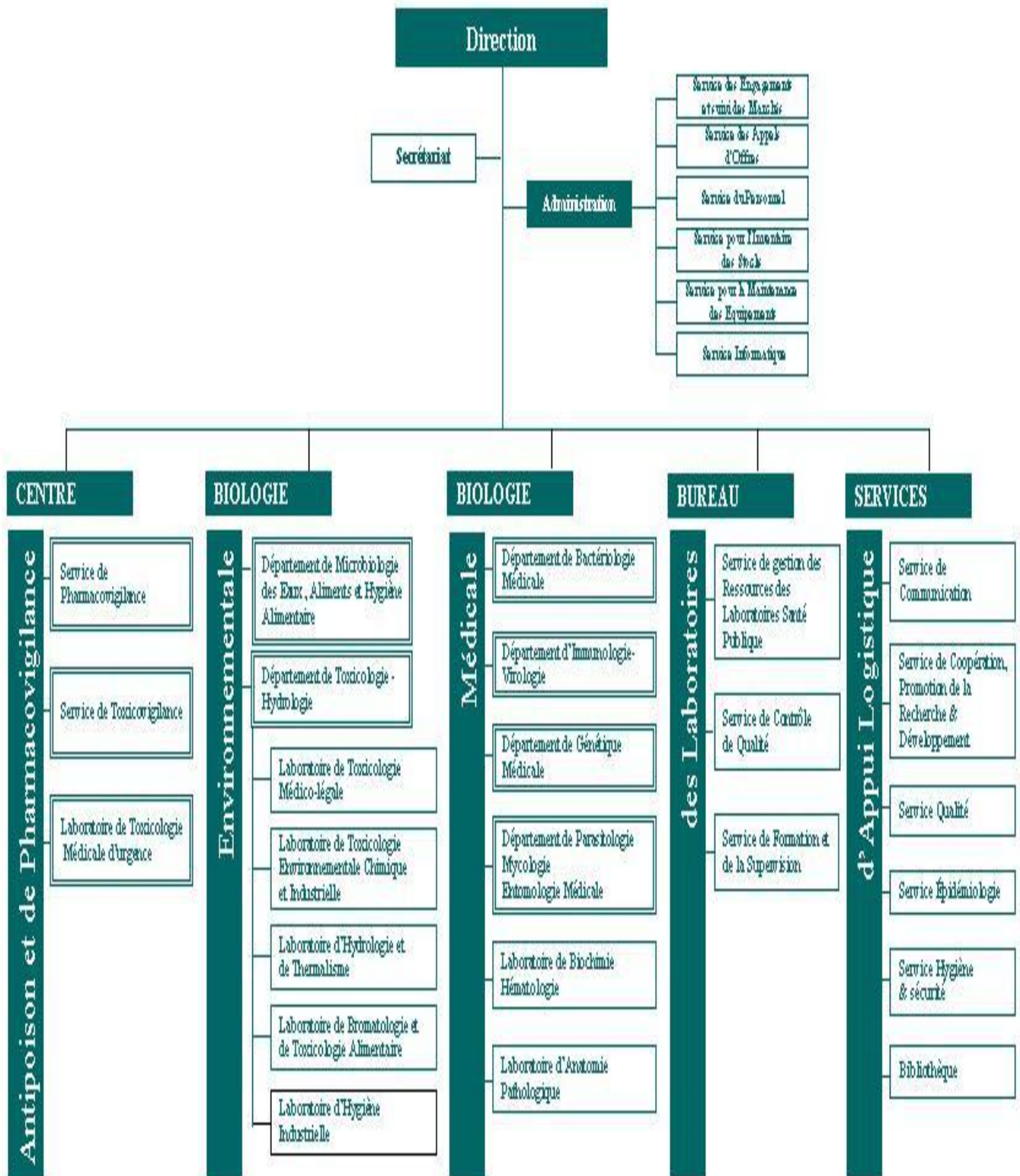
Le personnel du laboratoire est composé de:

- Un médecin biologiste : Abdellatif RACHDI.
- Un assistant médical : Mohammed SAOUIFI
- Quatre ingénieurs d'état : Asmae TANTANE, Sanae TOK, Najat CHERRADI, Rajae
BENERRADI
- Une technicienne : Fatiha ANSISSE,
- Une secrétaire : Nadia ATOBI.

Principaux équipements:

- Victor 2D
- Cobas C315
- Lecteur Elisa (Thermo-scientifique)

L'organigramme de l'INH Rabat



Abréviations

HC : Hypothyroïdie Congénitale

HT : Hormones Thyroïdiennes

Tg: Thyroglobuline

TSH: Thyroid Stimulating Hormone

TRH: Thyrotrophine Releasing Hormone

T₃ : Tri-iodothyronine

T₄ : Thyroxine (tétraïodothyronine)

MIT: Mono-iodothyrosine

DIT: Di-iodothyrosine

TBG: Thyroxin - binding globulin

TBPA: Thyroxin-binding prealbumin

TPO: Thyropéroxydase

TDCI : Troubles Dus à la Carence en Iode

SIAAP : Service d'Infrastructure d'Action Ambulatoires Provincial

Introduction	3
PREMIERE PARTIE :_La glande thyroïde &_Hypothyroïdie congénitale	14
I. la thyroïde	15
1. Anatomie	15
2. Histologie	15
3. <u>Effets générales des hormones thyroïdiennes</u>	8
4. Effets des hormones thyroïdiennes sur les tissus cibles	8
5. Activité de la thyroïde fœtale	20
6. Régulation	20
II : L'hypothyroïdie congénitale	21
1. Définition	21
2. Méthodologie de l'HC.....	23
3. Epidémiologie	24
4. Principales étiologies.....	24
5. Clinique	25
6. Dépistage néonatale de l'HC:.....	28
7. Traitement :	32
DEUXIEME PARTIE :_Matériel &_Méthodes	33
I. Matériel et méthode.....	34
1. Matériel	34
2. Méthode	25
II. Contrôle de qualité :	45
1. Contrôle de qualité externe :	45
2. Contrôle de qualité interne :	45
• Procédure du contrôle de qualité interne	46
• Documentation :	46
• Fréquence de contrôle :	46
• Valeur cible :	47
• Intervalle de tolérance :	47
• Critères du seuil d'alarme :.....	47
• Base statistique :	47
• Détermination des seuils d'avertissement et d'alarme :	47
Résultats	34
Discussion	39
Conclusion	42

Bibliographie.....	44
---------------------------	-----------

Annexe.....	48
--------------------	-----------

Résumé

Le dépistage néonatal de l'hypothyroïdie congénitale permet de poser le diagnostic à un stade précoce et d'instituer un traitement adapté salvateur d'une pathologie lourde tel un retard psychomoteur irréversible d'où la nécessité d'instaurer dans notre pays le dépistage néonatal systématique de l'hypothyroïdie congénitale pourvoyeuse d'un handicap mental évitable par un diagnostic précoce et un traitement adapté institué dès les 10 premiers jours de vie.

Tout laboratoire réalisant des analyses de biologie médicale doit disposer d'un système d'assurance de qualité basé sur des procédures opératoires écrites concernant les différentes étapes de l'analyse et les conditions de son exécution. Un système d'assurance de qualité doit être permanent et prévoit une trace des contrôles effectués.

Introduction

L'hypothyroïdie congénitale (HC) est l'une des causes les plus courantes de crétinisme mental évitable. Dans la plupart des cas, le trouble est permanent résultats d'une anomalie dans le développement de la glande thyroïde (dysgénésie ou agénésie) ou d'un défaut dans l'hormonogénèse de la thyroïde. Moins fréquemment, l'altération de la fonction thyroïdienne néonatale est transitoire, attribuable au passage transplacentaire des médicaments, d'anticorps bloquants, ou une carence ou excès en iode. Dans de rares cas, l'HC peut résulter d'une anomalie hypophysaire ou hypothalamique. Les concentrations des hormones thyroïdiennes (HT) sont faibles chez le fœtus pendant la première moitié de la grossesse. Pendant ce temps, le fœtus est entièrement dépendant des hormones thyroïdiennes (HT) maternelles; son approvisionnement est contrôlé par le placenta et le statut thyroïdien de la mère. Chez le fœtus l'axe hypothalamo-hypophysio-thyroïdien commence à fonctionner à la mi-gestation et arrive à maturité dans le nouveau-né à terme à la naissance.

Malgré l'importance cruciale des HT sur les systèmes d'organes multiples, en particulier le cerveau, la plupart des nourrissons atteints de HC semblent normaux à la naissance. Le fœtus hypothyroïdien semble être protégé au moins en partie par le transfert placentaire des TH maternelle. Le programme de dépistage pilote pour le HC a été développé au Québec, au Canada, et à Pittsburgh, en Pennsylvanie, en 1974 et mis actuellement en place en Europe occidentale, Amérique du Nord, le Japon, l'Australie, et dans certaines parties d'Europe orientale, Asie, Amérique

du Sud, et en Amérique centrale. En Amérique du Nord, plus de 5 millions de nouveau-nés sont dépistés et environ 1400 nouveau-nés présentent HC sont détectés chaque année.

Objectif de notre stage :

L'objectif de ce travail est la gestion de la phase pré analytique, analytique et post analytique du dépistage néonatal de l'hypothyroïdie congénitale (HC), et d'exposer les différentes étapes du dépistage néonatal de l'HC chez le nouveau-né dans la région de Rabat Salé Zmour Zair au sein du laboratoire de Biochimie à l'Institut Nationale d'Hygiène Rabat, l'étude physiologique de la glande thyroïde et le contrôle de qualité interne pour évaluer les résultats obtenus.

PREMIERE PARTIE :

La glande thyroïde

&

Hypothyroïdie congénitale

I. la thyroïde

1. Anatomie

La thyroïde est une glande endocrine située en dessous du larynx, de chaque côté et en avant de la trachée. On distingue deux lobes latéraux : le lobe droit et le lobe gauche ; reliés par l'isthme (mince bande de tissu thyroïdien) (**figure 1**).

C'est une des glandes les plus volumineuses de l'organisme. Son poids moyen est de 30 grammes. Ses dimensions sont d'environ 5 à 6cm de hauteur, 2cm de largeur pour chaque lobe et 1,5 à 2cm d'épaisseur. Sa couleur est brun rougeâtre, sa consistance molle. Cette glande est vascularisée et son débit sanguin est très important (**1**).

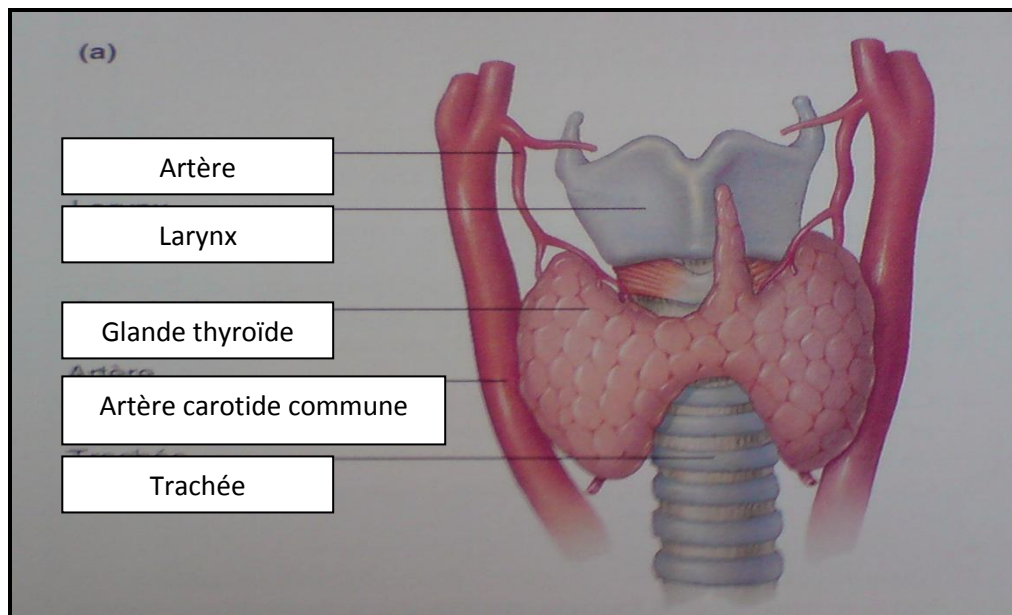


Figure 1 : Anatomie macroscopique de la glande thyroïde vue antérieure (13).

2. Histologie

La thyroïde est formée d'unités fonctionnelles appelées follicules thyroïdiennes (**Tableau 1**).

Le follicule thyroïdien est une structure sphérique bordée d'une couche de cellules remplie d'une substance protéinacée qui se colore en rose appelée colloïde (**figure 2**).

- Quand la glande est inactive, le colloïde est abondant, les follicules sont gros et leurs cellules sont aplaties.

- Quand elle est active, les follicules sont petits, les cellules ont une forme cubique ou cylindrique et le rebord du colloïde est festonné, formant plusieurs petites (lacune de résorption).

Les cellules para-folliculaires n'atteignent pas la lumière, peu nombreuses et secrètent la calcitonine (1).

Tableau1: *Un résumé des principales cellules thyroïdiennes.*

Cellule thyroïdienne	hormones	Cellules cibles	Principaux effets
Cellules folliculaires de la thyroïde	Tétraïodothyronine (thyroxine, T4) ; triiodothyronine(T3)	La plupart des cellules	Augmentation du métabolisme, indispensable au développement du système nerveux et à la croissance
Les parathyroïdes	La parathormone (PTH)	Le sang	Elle assure la régulation du métabolisme du calcium et du phosphore
Cellules C de la thyroïde	La calcitonine	Os	Diminution de la concentration plasmatique de calcium

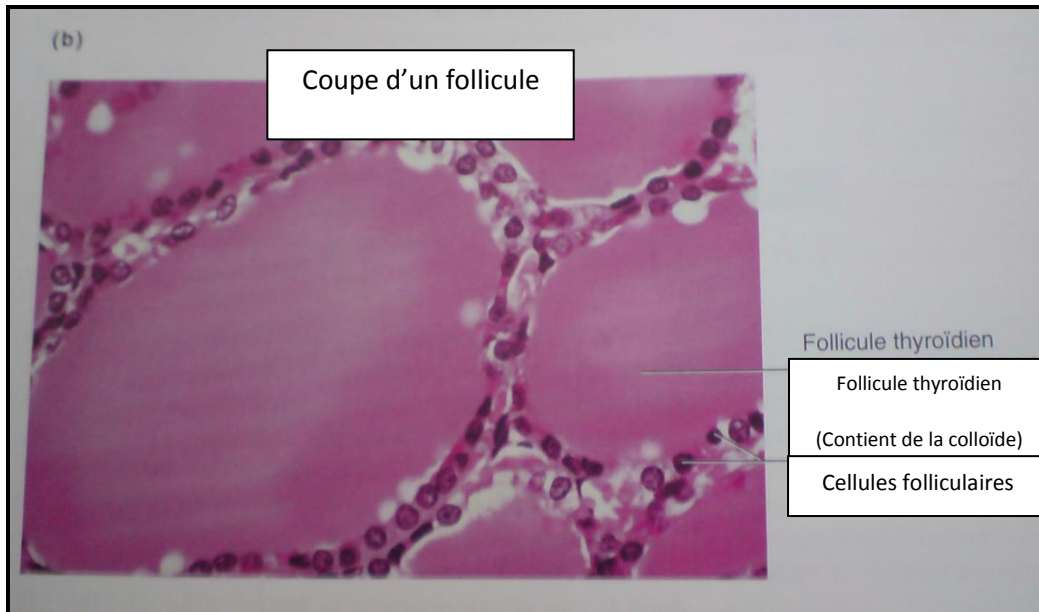


Figure 2 : Anatomie de la glande thyroïde (vue au microscope optique) (13).

2.1. Les hormones thyroïdiennes

Les principales hormones thyroïdiennes sont :

-la thyroxine: 3, 5,3',5' - tétra - iodothyronine, ou T4.

-la 3, 5,3' - tri - iodothyronine, ou T3 (**figure 3**).

Une désiodation périphérique de T4 en T3 donne à la T4, au moins en partie, un rôle de pro-hormone de la T3.

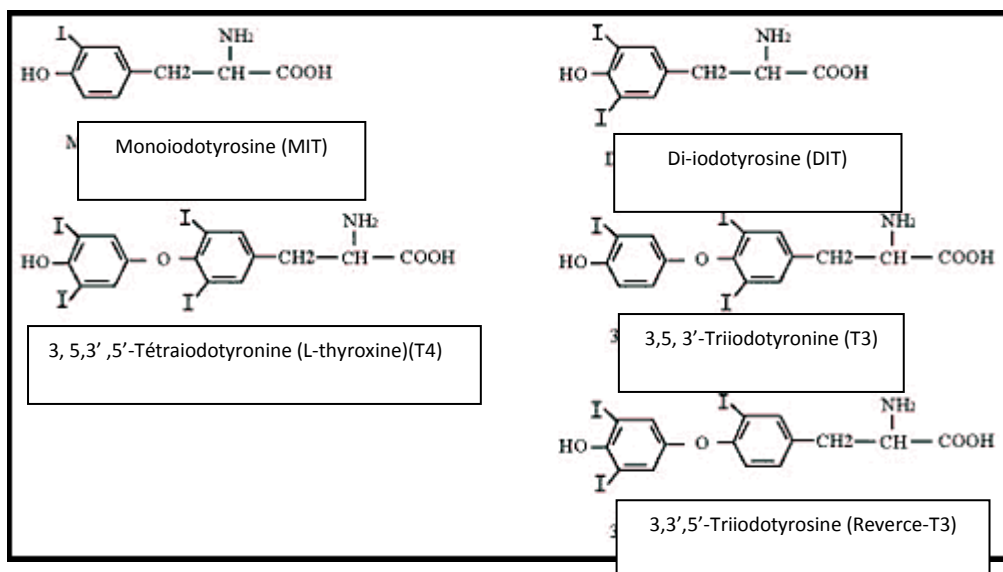


Figure 3 : Différent hormones thyroïdiennes.

2.2. Biosynthèse des hormones thyroïdiennes

L'iode est absorbé de l'intestin vers le sang où il circule sous forme d'iodure (I^-). Le transport de l'iode du sang vers la cellule épithéliale, à travers la membrane basale, est un phénomène actif puis l'iodure est oxydé en iode ($2I^- \rightarrow I_2 + 2e^-$). Il est ensuite organifié c'est-à-dire lié à la thyrosine pour former des mono-iodothyrosines (MIT) et di-iodothyrosines (DIT) (**Figure 4**).

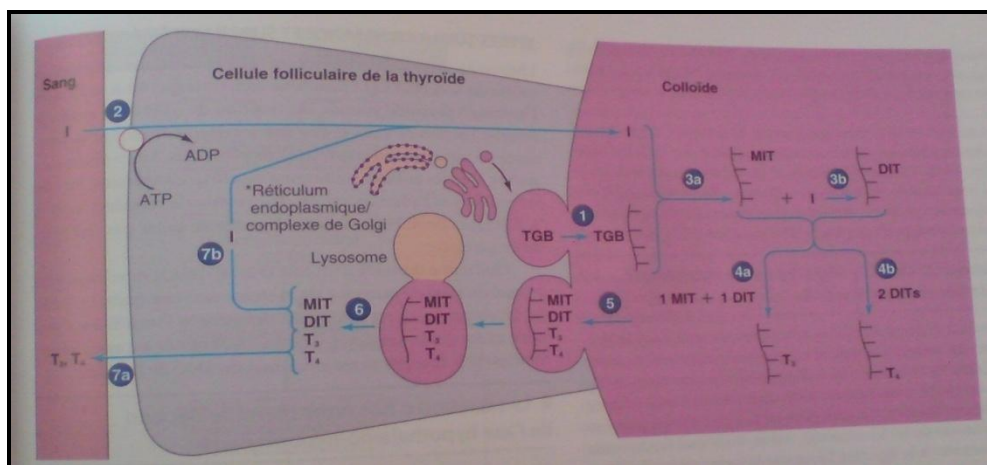


Figure 4 : Synthèse, stockage et sécrétion de l'hormone thyroïdienne (9).

1. La thyroglobuline (TGB) produite par des cellules folliculaires gagne la substance colloïde par exocytose.
2. L'iode est transporté activement du sang à l'intérieur des cellules folliculaires.
 3. a. la liaison d'un atome d'iode à la thyrosine de la TGB forme la mono-iodothyrosine (MIT).
 3. b. Et la liaison de deux atomes forme la di-iodothyrosine (DIT).
4. Le couplage :
 4. a. De deux DIT donne la tétra-iodothyronine (T4).
 4. b. Et celui d'une DIT et d'une MIT donne la tri-iodothyronine (T3).
5. En cas de stimulation appropriée, les cellules folliculaires captent par phagocytose et détachent de

la TGB les tyrosines iodées.

6. a. T3 et T4 diffusent dans le sang.

6. b. L'iode est détaché des MIT et DIT et l'iode libre est réutilisé pour la synthèse d'hormone **(13)**.

3. Effets généraux des hormones thyroïdiennes

1. Les hormones thyroïdiennes stimulent le métabolisme, ce qui engendre la consommation de calorie (effet aborigène). Il y a alors production de chaleur.

2. Les effets du système nerveux sympathique sont potentialisés par les hormones thyroïdiennes (effets permissif des hormones thyroïdiennes).

3. Les hormones thyroïdiennes sont essentielles à la croissance et au développement normal, notamment du système nerveux, au cours de la vie fœtale et de l'enfant **(9)**.

4. Effets des hormones thyroïdiennes sur les tissus cibles

4.1. Chez le fœtus

Les HT interviennent dans la croissance en favorisant la maturation osseuse, comme en témoigne le retard osseux avec parfois dysgénésie épiphysaire des nouveau-nés hypothyroïdiens.

Les nouveau-nés atteints d'hypothyroïdie congénitale ont souvent un poids inférieur à 2500g mais la prématurité est alors fréquente.

4.2. Chez le nouveau-né

Il a été démontré que les HT jouent un rôle essentiel dans le développement des axones et des ramifications dendritiques ainsi que dans la myélinisation des fibres nerveuses en raison de leur rôle dans le système des lipoprotéines.

Dans la croissance somatique: les HT jouent un rôle important dans la croissance somatique post-natale. Cette action s'exerce à divers niveaux:

-au niveau du cartilage de conjugaison, elles entraînent une activation du cartilage sérié et hypertrophique, une accélération de la maturation du cartilage calcifié.

- elles augmentent la vitesse d'ossification des épiphyses et des os de membrane. Elles agissent directement, en activant les synthèses protéiques en synergie avec l'hormone de croissance.

4.3. Chez l'enfant

Leur action se traduit par un effet fondamental sur la croissance en général, mais plus spécifiquement sur la croissance osseuse et sur l'élaboration du cerveau.

5. Activité de la thyroïde fœtale

Elle commence vers la 8^{ème} semaine de gestation avec la production de thyroglobuline. Vers la dixième semaine, la thyroïde commence à capter l'iode et à ioder la thyrosine. Vers la 12^{ème} semaine, l'antéhypophyse fœtale commence à sécréter la TSH.

Au milieu de la gestation, l'axe hypothalamo-hypophyso-thyroïdien fœtal est fonctionnel. Il est indépendant de celui de la mère. En effet, la TSH et les HT ne traversent pas le placenta. Seul le TRH traverse le placenta. Aussi, l'administration de TRH à la mère est utilisée pour stimuler la maturation du fœtus prématuré. Lors de l'accouchement, il ya une augmentation de la TSH du nouveau-né. Puis celle-ci diminue pour atteindre des valeurs normales (< 5 mU/L) vers le 7e jour de vie. Le taux élevé de TSH entraîne une augmentation du taux circulant des HT. Ces variations transitoires conduisent à faire le prélèvement de sang pour le dépistage systématique de l'hypothyroïdie vers le 3^{ème} au 6^{ème} jour de vie.

6. Régulation

Le fonctionnement de la glande thyroïde est principalement régulé par l'axe hypothalamo-hypophysaire **(14)**. La thyrostimuline hypophysaire (TSH) règle à la fois le niveau de fonctionnement de la thyroïde, la qualité de diverses opérations de biosynthèse et la sécrétion des hormones dans le sang. Le taux de sécrétion de TSH, est en retour, sous la dépendance d'un mécanisme de rétrocontrôle par le taux de T4 et surtout de T3 du plasma **(figure 5)**.

La T3 reverse ne joue pas de rôle de rétrocontrôle. Une hormone hypothalamique, TRH (thyrotrophin Releasing Hormone) isolée et synthétisée, règle la libération hypophysaire de TSH selon les besoins hormonaux car elle est sensible également aux taux plasmatique de TSH, mais aussi de T4 et T3.

Sur ce double rétrocontrôle viennent aussi se greffer des influx corticaux et sous corticaux en relation avec l'état psychique et émotionnel **(15)**.

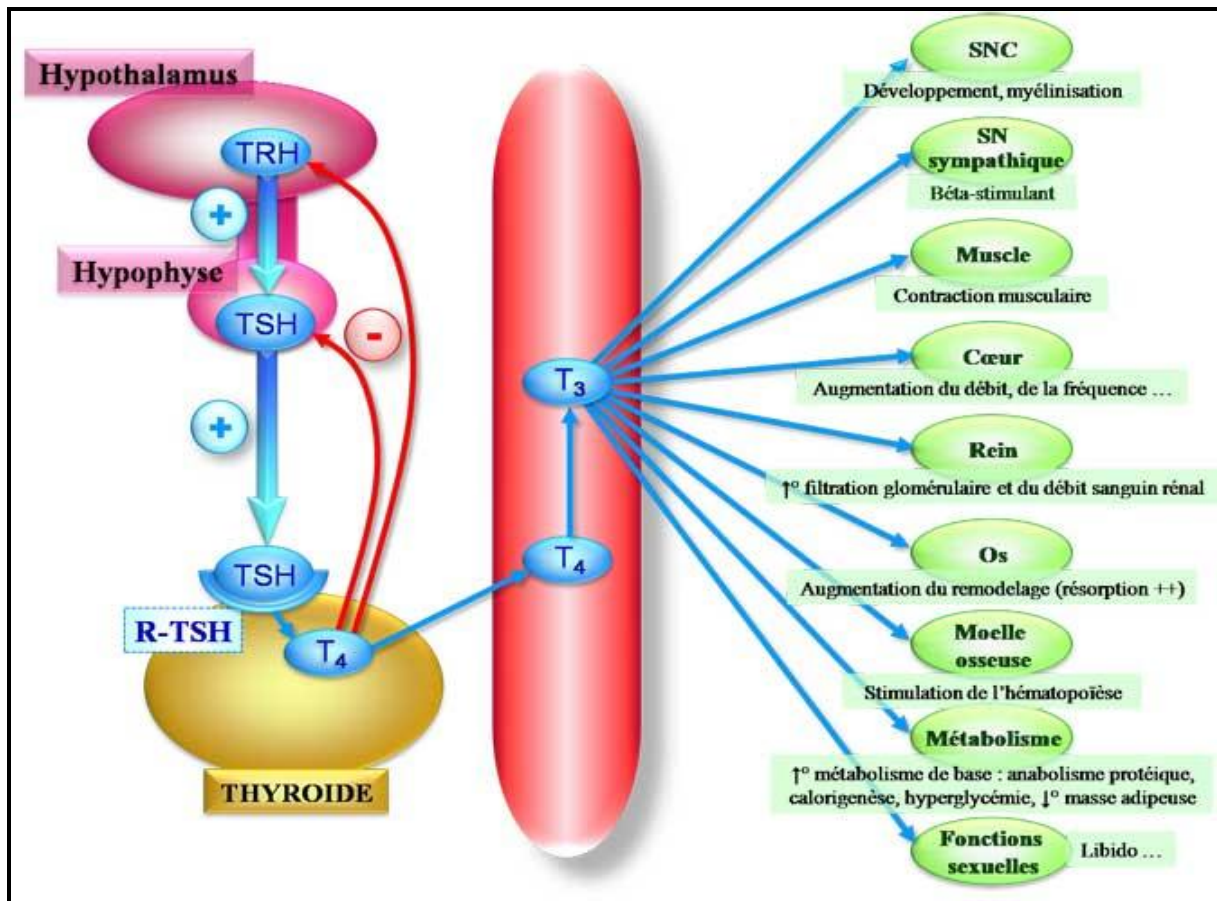


Figure5 : *régulation du fonctionnement de la thyroïde.*

II : L'hypothyroïdie congénitale

1. Définition

L'hypothyroïdie congénitale (HT) est une maladie liée à une production insuffisante d'HT. Le terme « congénital » signifie que cette anomalie est présente à la naissance, même si elle ne donne pas toujours de symptômes à la naissance.

En l'absence de traitement, l'HT entraîne un retard du développement psychomoteur et de la croissance. Dépistée systématiquement à la naissance, l'hypothyroïdie congénitale est aujourd'hui très bien prise en charge dans les pays développés tels que la France, Canada, le Japon...

Différents types d'hypothyroïdies congénitales (figure6):

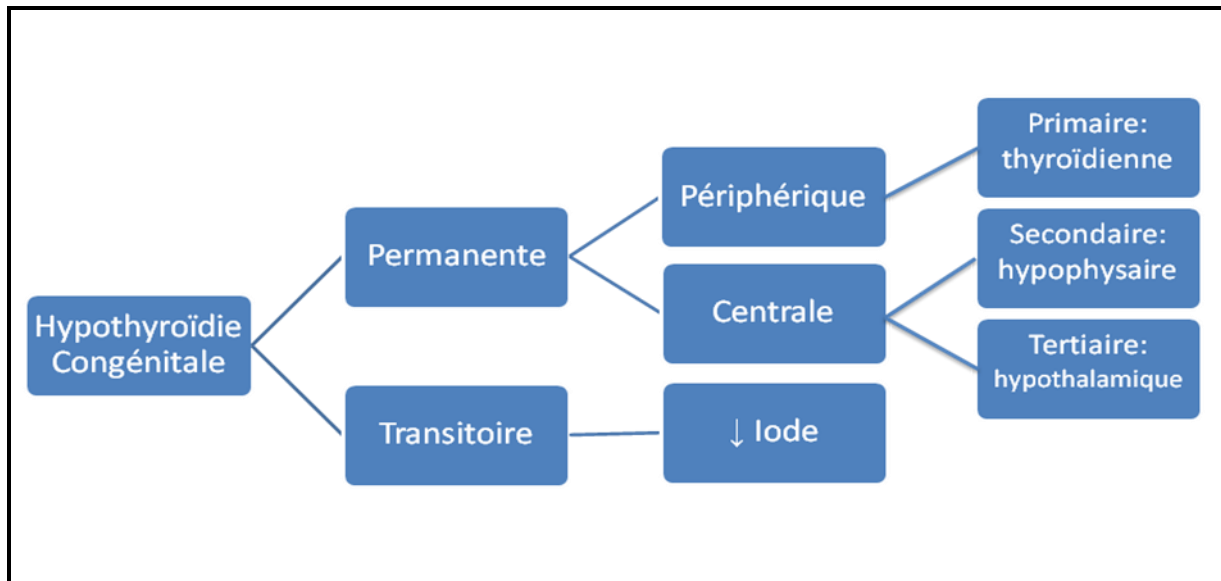


Figure6 : Différents types d'HC

➤ **HC permanentes :**

✓ **HC périphériques : Primaires**

- Dysgénésies (ectopie, agénésie, hypoplasie, hémiagénésie) 85 % des formes dysgénétiques sont dues à une anomalie de développement de la glande thyroïde, dans 1/3 des cas il s'agit d'une athyréose, dans le reste des cas il s'agit d'une ectopie (glande ectopique sublinguale, sous maxillaire). On sait aujourd'hui qu'il existe des formes familiales (2 %), et que ces malformations congénitales sont associées dans 9 % des cas. Les gènes impliqués sont Pax 8, TTF-1, TTF-2 (TTF pour facteur de transcription thyroïdien).

- Troubles de l'hormonosynthèse (mutations thyroglobuline, transporteur d'iode/sodium, Thyroperoxidase): 10 à 15 % des hypothyroïdies congénitales sont dues à des troubles de l'hormonosynthèse : la thyroïde est en place mais non fonctionnelle, son volume est normal ou augmenté. Il s'agit souvent de cas familiaux, la transmission est souvent autosomique récessive ou à

des mutations du récepteur de la TSH

- Résistance à la TSH (mutations récepteur TSH)
- Résistance aux hormones thyroïdiennes (mutation TRH)
- Anomalie du transport des hormones thyroïdiennes (mutation MCT8)

✓ **HC centrales :**

- **HC hypophysaire : secondaire**

Due à un dysfonctionnement de l'*hypophyse*

- Syndrome d'interruption de la tige hypophysaire

- **HC hypothalamique : tertiaire**

- Mutations inactivatrices du récepteur de TRH, de facteurs de transcription hypophysaire

(Pit-1, Pro-Pit 1, LHX 3, HESX-1).

TEST : Le test de stimulation par la TRH a pour intérêt théorique de distinguer l'hypothyroïdie centrale d'origine hypophysaire où la réponse de TSH est supprimée et l'hypothyroïdie hypothalamique où la réponse persiste.

➤ **Hypothyroïdies congénitales transitoires**

-Carence en iode sévère: Une hypothyroïdie même légère chez une femme enceinte affectera le potentiel psycho-intellectuel de son enfant et ce en l'absence chez celui-ci d'un dysfonctionnement thyroïdien. Une surveillance systématique de l'hypothyroïdie et de la présence des auto-anticorps antithyroïdiens doit être faite avant et pendant la grossesse : il est important de se rappeler que 3 à 25% de toutes les femmes enceintes sont ou deviennent hypothyroïdiennes ; ceci est le plus souvent dû à des problèmes d'auto-immunité antithyroïdienne. L'apport en iode chez la femme enceinte devrait atteindre un minimum de 200µg/jour.

- Traitement maternel par antithyroïdiens
- Passage transplacentaire d'anticorps contre le récepteur de TSH
- Mutations hétérozygotes inactivatrices de THOX₂.

2. Méthodologie de l'HC

L'hormone mesurée pour le dépistage ou l'HT parvenir selon les pays la TSH ou la T₄ ou les deux, mais ceci accroît le coût du dépistage. Le dosage de la TSH a pour inconvénient de méconnaître

les hypothyroïdies d'origine centrale. Celles-ci sont en fait beaucoup plus rares que les hypothyroïdies d'origine périphériques. Le dosage de T_4 permet, en théorie, de dépister les deux types d'hypothyroïdie. Cependant, certains enfants ayant une hypothyroïdie par ectopie de la glande thyroïde ont une T_4 maintenue dans la zone normale basse grâce à une hyper stimulation de la thyroïde par la TSH. Dans cette situation, l'hypothyroïdie risque d'être méconnue par le dépistage si on ne mesure que la T_4 .

En France, le dépistage est fait par le dosage de la TSH. En fonction du taux de TSH, on se trouve devant une des situations suivantes:

- < à 20mUI/l → fonction thyroïdienne normale
- 20 à 50mUI/l, un 2^{ème} prélèvement est demandé pour le dosage.
- > à 50mUI/l, l'enfant est convoqué pour examens cliniques et complémentaires.

3. Epidémiologie

L'hypothyroïdie congénitale est, avec une prévalence de 1 sur 3 500 nouveau-nés, la principale cause évitable de retard mental constitue l'anomalie congénitale endocrinienne la plus fréquente dans les pays industrialisés. Dans le reste du monde, la carence en iode maternelle et fœtale est le pourvoyeur du plus grand nombre d'hypothyroïdies fœtales, néonatales et de l'enfant **(3)**.

Au Maroc nous ne disposons pas à l'échelle nationale d'études statistiques puisqu'on n'a pas encore adopté le dépistage systématique de cette pathologie.

Cependant, les différentes études réalisées au CHU Rabat révèlent une moyenne de 11 cas d'HC par an sont hospitalisés. Cette pathologie représente 65% des thyroépathies et environ 24% de l'ensemble des autres endocrinopathies.

Par ailleurs en 1994 un 1^{er} essai de dépistage réalisé sur 400 nouveau-nés au Service de Pédiatrie Centre National de Référence en Néonatalogie et en Nutrition (CNRNN) au CHU de Rabat à situé l'indice de l'HC à 0,5% des hospitalisations, soit 20 fois plus qu'en Europe.

4. Principales étiologies

Les principales causes de l'HC sont:

► Dysgénésie :

- ◆ Athyroïdie congénitale.
- ◆ Ectopie thyroïdienne.

► Troubles de l'hormono-synthèse thyroïdienne :

- ◆ Défaut de captation de l'iode.
 - ◆ Défaut de l'organification de l'iode.
 - ◆ Défaut de couplage de l'iodothyrosines.
 - ◆ Défaut de déshalogenation des iodothyrosines.
 - ◆ Sécrétion anormale d'iodoprotéines.
 - ◆ Absence de thyroglobuline.

► Origine maternelle :

Ingestion maternelle pendant la grossesse de substance goitrigènes, d'antithyroïdiennede synthèse, d'iode ou d'iode radioactif.

► Déficit en iode (crétinisme).

► Hypothyroïdie d'origine centrale.

5. Clinique

5.1. Symptômes

Les symptômes qui peuvent orienter ce diagnostic chez un nouveau-né se manifestent au cours des premières semaines et s'accroissent avec le temps, sont multiples, l'hypothermie néonatale étant le premier signe. Il faut couvrir l'enfant rapidement pour qu'il ne se refroidisse pas. Les difficultés respiratoires initiales sont rares, sauf en cas de goitre volumineux. La prise des biberons est longue et difficile: l'enfant s'endort, ne finit pas ses biberons, il dort à l'heure où le suivant devrait être pris. Il est constipé : les selles sont rares. Ceci est d'autant plus évocateur qu'il est nourri au lait de mère. Cet enfant qui dort beaucoup est considéré comme «très sage» parfois« trop sage». Il ne manifeste que peu d'intérêt à ce qui l'entoure. La différence est d'autant plus nette qu'il y a eu des enfants avant pour comparer la qualité de l'éveil.

5.2. Les signes cliniques (tableau 2)

Ils sont importants à détecter le plus tôt possible.

- ◆L'ictère néonatal, jugé le plus souvent banal demeure bien plus longtemps que celui qui est appelé «physiologique» mais sa persistance est variable et il peut avoir disparu lors du diagnostic.
 - ◆Le cri est caractéristique: il est retardé dans son émission. L'enfant grimace d'abord puis crie. Ce cri est rauque, bref, il ne dure que quelques secondes.
 - ◆La respiration, dans les cas extrêmes est brève bruyante embarrassée en décubitus dorsal. Les lèvres sont cyaniques, la déglutition aggrave la dyspnée.
 - ◆L'enfant est très chevelu, sa chevelure néonatale ne tombe pas, les cheveux sont secs et grossiers. Le visage est infiltré, particulièrement le nez, les arcades sourcilières, les oreilles sont gonflées (**figure 7**), la peau est froide (les mains bleutées ou violettes), marbrée, sèche et desquame au niveau des pieds, des jambes, du dos et des épaules.
 - ◆L'hernie ombilicale existe dans presque tous les cas. L'abdomen est distendu. L'enfant est hypotonique, la tête ballote sur la nuque, le crâne présente une large fontanelle antérieure et une fontanelle postérieure qui est anormalement perméable. Les sutures crâniennes sont larges (**figure 8**).
 - ◆La croissance pondérale est conservée et doit même être sujet d'étonnement car les prises alimentaires ne sont pas en rapport. La croissance staturale est diminuée de façon très marquée car elle est à comparer aux 4cm d'accroissement moyen lors du 1^{er} mois.
- Le périmètre crânien se développe lentement lui aussi.

Tableau 2 : *Tableau présentant les caractéristiques cliniques de l'hypothyroïdie congénitale*

Age	Manifestation
-----	---------------

A la naissance	Post-maturité : poids > 4 kg, hypothermie transitoire, large fontanelle postérieure (> 5 mm) et goitre.
Après la naissance	Somnolence, hypoactivité, mauvaise alimentation, absence de gain de poids, constipation, distension abdominale, ictère prolongé > 3 jours et problèmes respiratoires.
Plus tard	Retard de croissance, peau et cheveux sèches, macroglossie myxœdème, cri rauque, lenteur des réponses, retard du développement et retard de croissance.



Figure 7: Un enfant très chevelu (les cheveux sont secs et grossiers). Un visage est infiltré, particulièrement le nez, et des oreilles gonflées(6).



6. Dépistage néonatale de l'HC:

L'objectif du programme de dépistage néonatal de l'hypothyroïdie congénitale est :

- ✓ D'identifier au sein de l'ensemble des nouveau-nés à priori sains, les quelques enfants qui vont développer une pathologie très invalidante (voir mortelle) si aucune action préventive n'est mise en place.
- ✓ Celle-ci doit aboutir à un diagnostic précoce et à un traitement efficace en phase pré symptomatique.
- ✓ Le dépistage doit modifier le cours évolutif de la maladie en évitant l'installation de lésions irréversibles.

6.1. Les principes :

L'histoire de dépistage néonatal à partir de taches de sang séché sur papier buvard, a commencé en 1963 avec la mise au point du test de Guthrie.

Le dépistage néonatal a pour principe de rechercher de façon systématique chez tous les nouveau-nés, une pathologie de révélation précoce, à partir de taches de sang séché sur papier buvard (test de Guthrie) avant que celle-ci n'entraîne des séquences irréversibles.

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (1968), la mise en place d'un programme de dépistage obéit à différents critères :

- ◆ La maladie doit être un problème important de santé.
- ◆ Elle doit disposer d'un traitement.
- ◆ Elle nécessite l'organisation du diagnostic et le traitement des malades.
- ◆ La maladie doit être reconnue à un stade pré-symptomatique.
- ◆ La confirmation du dépistage par des méthodes de certitude est obligatoire.
- ◆ Le test doit être accepté par la population, assez simple, reproductible, et de bonnes sensibilités et spécificité.
- ◆ L'histoire naturelle de la maladie doit être comprise.

- ◆Le protocole de traitement doit être défini.
- ◆Le rapport cout/bénéfice doit être apprécié.
- ◆La pérennité du programme doit être assurée.

Partant de ce fait, plusieurs pays dans le monde ont implanté progressivement, durant les quarante dernières années le dépistage néonatal.

6.2. Les composantes du système de dépistage néonatal (figure 9) :

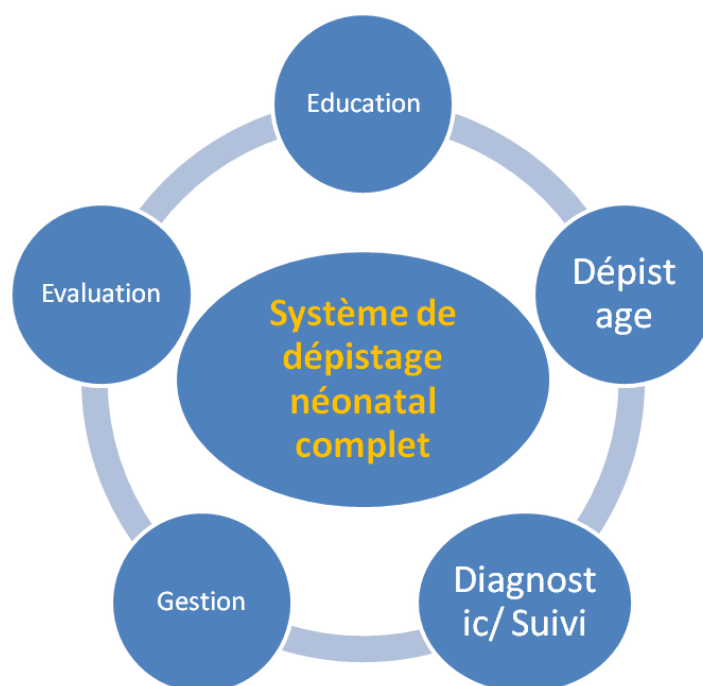


Figure 9 : composantes du système néonatal complet

(Voir annexe : circuit des prélèvements et de prise en charge de nouveau-nés).

- **Education information**

La sensibilisation des professionnels de santé, des parents et de toutes personnes impliquées est l'une

des composantes essentielle de tout programme de dépistage néonatale est ce par le biais de support didactiques divers (dépliants, affiches, supports audiovisuels) (figure12).

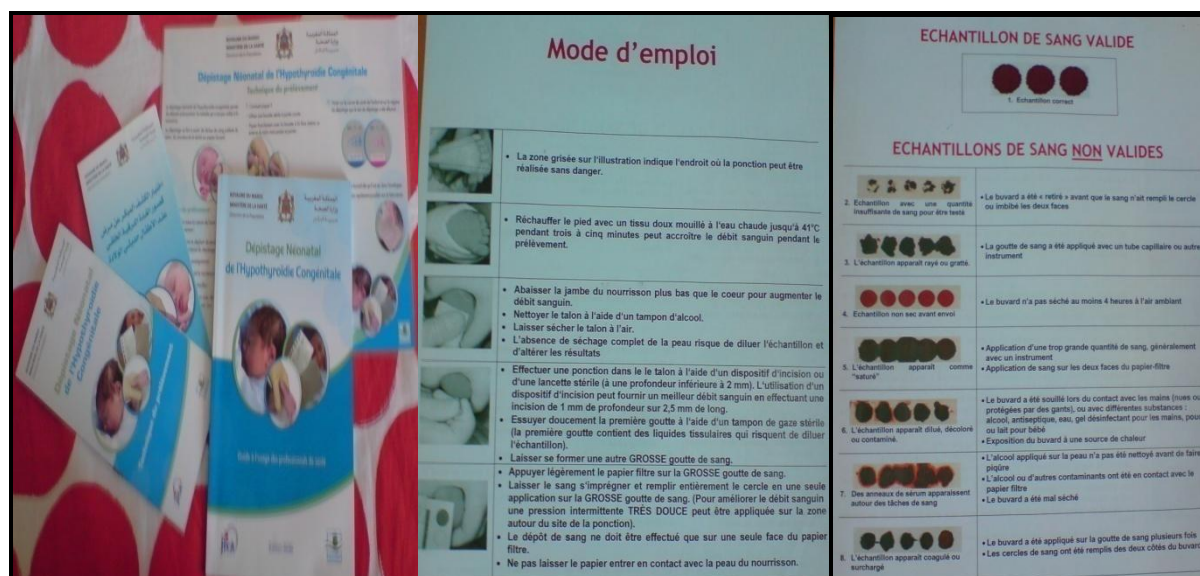


Figure10 : Dépliants et affiches

- **Dépistage**

- La collecte des échantillons doit se faire dans les premiers jours de la vie ;
- Les échantillons sont collectés à partir du talon ;
- Les échantillons doivent être prélevés sur un papier buvard ;
- Les principales données démographiques du nouveau-né doivent être correctement documentées sur la fiche de prélèvement, la fiche des renseignements, la fiche de consentement et sur les registres ;
- Les procédures de collecte des échantillons nécessitent une surveillance et un suivi rigoureux pour éviter les erreurs ;
- Les échantillons doivent être transportés rapidement et efficacement pour limiter les dommages à l'échantillon ;

- Le taux de rappel doit être ajusté pour maintenir la viabilité du programme.

- **Rappel des cas suspects et ceux confirmés positifs**

Convocation rapide des nouveau-nés avec résultats positifs au test de dépistage pour la prise en charge et ceux avec résultats suspect pour la réalisation de deuxième prélèvement de confirmation (parents) en utilisant les moyens de communication les plus rapides (Téléphone).

- **Diagnostic**

Le diagnostic se fait par le dosage de confirmation du taux élevé de TSH seul ou bien couplé à celui de T4.

- **Gestion**

Le traitement approprié et immédiat est essentiel chez tous nouveau-né souffrant de maladies identifiées ;

Le suivi des enfants et une bonne observance au traitement sont cruciaux pour le développement normal.

- **Evaluation (voir CQI 2eme partie)**

Le suivi, le contrôle de la qualité et des vérifications périodiques sont nécessaires pour évaluer tous les aspects du système de dépistage néonatal : validité de l'échantillonnage et l'essai des systèmes, l'efficacité du suivi et de l'intervention, une évaluation des avantages à long terme pour les individus, les familles et la société.

Notre pays a eu le privilège d'organiser en novembre 2006, une conférence international sur le dépistage néonatale (DNN) dont les recommandations sont groupé sous la « Déclaration de Marrakech » encourageant tous les pays à:

- Mettre en place d'un programme national systématique global de DNN (priorité-globalité-.....);
- Réaliser des études de population pour déterminer l'incidence des maladies génétiques;
- Établir une base nationale de données spécifique pour chaque pays;
- Partager l'expertise, l'information, et d'autres ressources;
- Élaborer des programmes de formation afin de former des équipes interdisciplinaires nécessaires pour les systèmes de dépistage néonatal.

L'engagement du Maroc à la déclaration de Marrakech (2006) a été concrétisé par la constitution en 2007 d'une commission nationale de réflexion pour élaborer un programme national sur le dépistage néonatal.

7. Traitement :

Il consiste en l'administration à vie de thyroxine. Celle-ci existe sous forme de gouttes (L Thyroxine) et de comprimés (Levothyrox).

Les gouttes sont utilisées durant la première année de vie puis sont remplacées ultérieurement par des comprimés. Le Thyroxine est administrée en une prise quotidienne.

La posologie est de 8 $\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{j}$ durant le 1er trimestre de vie, puis les besoins diminuent pour atteindre 5 $\mu\text{g}/\text{Kg}/\text{j}$ vers l'âge de 2 ans. La surveillance se fait sur des données cliniques (évolution de la croissance staturo-pondérale, fréquence cardiaque) et sur les taux circulants de T_4 et de TSH (mensuel, puis tous les 2 mois jusqu'à l'âge de 6 mois, trimestriel jusqu'à l'âge de 2 ans, puis semestriel). La dose est à ajuster pour maintenir la T_4 dans la zone limite supérieure de la normale et la TSH détectable et $< 5\text{mU}/\text{l}$.

Il est essentiel que le contrôle soit parfait, surtout la 1ère année de vie et ce, en raison du rôle des hormones thyroïdiennes dans le développement des structures osseuses. Durant cette période, des ajustements fréquents de la dose sont nécessaires du fait des modifications rapides du poids.

DEUXIEME PARTIE :

Matériel

&

Méthodes

I. Matériel et méthode

1. Matériel

Grâce au développement de la technologie scientifique, Il existe deux méthodes d'analyse des prélèvements : la méthode manuelle et la méthode automatique (**tableau 3**).

Tableau 3 : comparaison entre les deux méthodes

Dimensions	Méthode manuelle	Méthode automatique
Nombre de prélèvements	150 à 200/jour 35.000 à 40.000 par an	Plus de 200/jour Plus de 40.000 par an
Processus	Nécessite des étapes à suivre	Automatique et donne la liste des échantillons anormaux ;
Coût	Environs 200 à 300.000, Dhs (prix total de laveur, lecteur et des kits) y compris PC, imprimante et logiciel	Plus de 700.000,00 Dhs (logiciel non compris)

❖ Discutions de la méthode manuelle.

1.1. Matériel de prélèvement :

Plateau, coton, alcool, vaccinostyle, sparadrap (petit format), papier buvard 903 (schleicherschuell).

Les renseignements sur le nouveau né seront inscrits sur une la fiche de renseignements (Fiche R1) (voir paragraphe Suivi/évaluation) (**figure 11**).

PerkinElmer 226 LOT 100535 / XXXXXX

Royaume du Maroc المملكة المغربية
 Ministère de la Santé وزارة الصحة

Echantillon N° _____ Province: _____
 Lieu d'accouchement: _____ Terme(S): _____
 Sexe: M F Date de naissance: ____/____/____
 Nom et prénom de la mère: _____
 Nom et prénom du père: _____
 Lieu de prélèvement: _____
 Adresse des parents: _____
 Tél (Fixe et mobile): _____
 Centre de santé le plus proche du domicile: _____
 Poids de naissance (kg): _____ Prématuré: oui non
 Date du prélèvement: _____ H de vie: 1^{er} prélèvement 2^{ème} prélèvement
 Valeur de TSH: <20µU/ml _____ 20-40µU/ml _____ >40µU/ml _____

JICA CE ISO 13485 PerkinElmer Health Sciences div. 77 Ford St, Shelton, CT 06484 USA
 Helsinki, Suomeksi 00010
 PL 00700 Turku, Finland yyyy-mm

Figure 11 : fiche de prélèvement avec papier buvard.

1.2. Matériel de dosage :

On utilise la trousse DELFIA h-TSH qui contient des réactifs pour 960 dosages. La date de péremption de la trousse complète est inscrite sur l'étiquette extérieure. Le stockage se fait entre +2°C et 8°C.

Un fluoromètre pour la mesure de la fluorescence des tests (**figure 12**). Il est soutenu par une gamme d'appareils pour la préparation des échantillons, y compris le DBS Puncher (**figure 13**).

Delfia Laveuse-Diskremove (**figure 14**), DELFIA Plateshake et / ou Tri-Nest Incubateur Shaker.



Figure 12 : Fluoromètre.



Figure 13 : Puncher



Figure 14 : Laveuse-Diskremove

1.2.1. Standards et contrôles

Les standards et les contrôles sont préparés à partir de sang humain avec hématoците de 50-55% et calibrés contre la Seconde Préparation Internationale de Référence (IRP") (80/558) de l'OMS TSH humaine pour les immunodosages.

1.2.2. Réactifs

Tableau 4 : La Qualité et la durée de vie des réactifs

Constituants	Quantité	Durée de vie et conservation
Solution mère de Traceur Anti-hTSH -EL (-20 µg/ml) (monoclonal de souris)	1 flacon de 1,5 ml	+2°C a + 8°C jusqu'à la date de péremption inscrite sur l'étiquette du flacon
	Contient des IgG de souris et 0,05% d'azide de sodium	

	comme conservateur.	
Solution de lavage concentrée	1 bouteille de 250 ml	+2°C a + 8°C jusqu'à la date de péremption inscrite sur l'étiquette du flacon.
	Solution saline concentrée, 25 fois tamponnée Tris -HCl (pH 7,8), contenant du Tween 20, Contient du Germail II comme conservateur.	
Solution tampon, hTSH- Néonatale prête à l'emploi.	1 bouteille de 250 ml	+2°C a + 8°C jusqu'à la date de péremption inscrite sur l'étiquette du flacon.
	Solution saline tamponnée Tris-HCl (pH7,8) contenant de sérum albumine bovine, de la globuline bovine du Tween 40, du polyéthylène glycol 6000, un colorant rouge inerte, et 0,05 % d'azide de sodium comme conservateur.	
Solution de développement prête à l'emploi	Une bouteille de 250 ml	+2°C a + 8°C jusqu'à la date de péremption inscrite sur l'étiquette du flacon, protégée de la lumière directe.
	Solution de développement contenant du Triton X-100 de l'acide acétique et des chélateurs	
Barrettes de puits de microtitration anti-h-TSH	10 plaques x 8 x 12 puits revêtus avec des anticorps dirigés contre un site spécifique de la sous – unité bétade la molécule hTSH.	+2°C a + 8°C jusqu'à la date de péremption inscrite sur l'étiquette. S'assurer que l'enveloppe et le plastique reste bien fermé.













1.3. *Matériel indispensable non fourni avec la trousse*

- Fluoromètre en temps résolu ;
- Laveur automatique ;
- Agitateur automatique ;

- Emporte-pièce automatique ou un emporte-pièce manuel ;
- disques de papier-filtre d'un diamètre d'environ 3 mm ;
- Une pipette pour distribuer la solution diluée de traceur-Eppendorf Multipette avec Combitips de 5ml.
- Pipettes de précision pour distribuer les volumes en microlitres ;
- Pipettes graduées en millilitre de tampon pour préparer la solution diluée du traceur ;
- Eau distillée.

2. Méthode

2.1. Calendrier

	Lundi	Mardi	Mercredi	Jeudi	Vendredi	Samedi	Dimanche
Réalisation des prélèvements							
Vérification et analyse							
Test de contrôle / confirmation							

Les prélèvements sont effectués chaque jour avant la sortie de l'enfant de la structure d'accouchement (Maison d'accouchement/Maternité hospitalière) et sont acheminés le même jour au laboratoire d'analyse biochimique de l'INH.

La vérification et l'enregistrement des fiches de prélèvement ainsi que la réalisation de dosage de TSH se font le lundi, le mercredi et le vendredi.

Tout prélèvement non conforme et/ou manque d'information sur la fiche de renseignement doit être retourné à la structure d'accouchement référente pour refaire le prélèvement.

2.2. Technique de prélèvement

Dans ce stage on a assisté à la maternité des orangés Rabat à une séance de prélèvement où le pédiatre a effectué les étapes suivantes :

- Préparer le matériel nécessaire;
- Remplir soigneusement la fiche d'information (**figure 11**);
- Réchauffer le talon (**figure 15, A**);
- Nettoyer le talon à l'alcool et laisser sécher;
- Installer confortablement le nouveau né en position ventrale;
- Piquer franchement avec la lancette sur l'une des faces latérales (la face interne) du talon ;
- Presser la cheville avec la main pour faciliter l'écoulement du sang (**figure 15, B**);
- Remplir entièrement de sang, sans surcharge les cercles du papier buvard (**figure 15, C**);
- Lorsque le prélèvement est correct, les tâches de sang doivent apparaître identiques des deux côtés du papier buvard (**figure 15, D**);
- Couvrir le lieu du prélèvement par du sparadrap stérile (**figure 15, E**);
- Laisser sécher à température ambiante les tâches de sang en plaçant la fiche en position horizontale sur une surface propre non absorbante pendant 2 heures loin de la chaleur et l'humidité (**figure 15, F**).

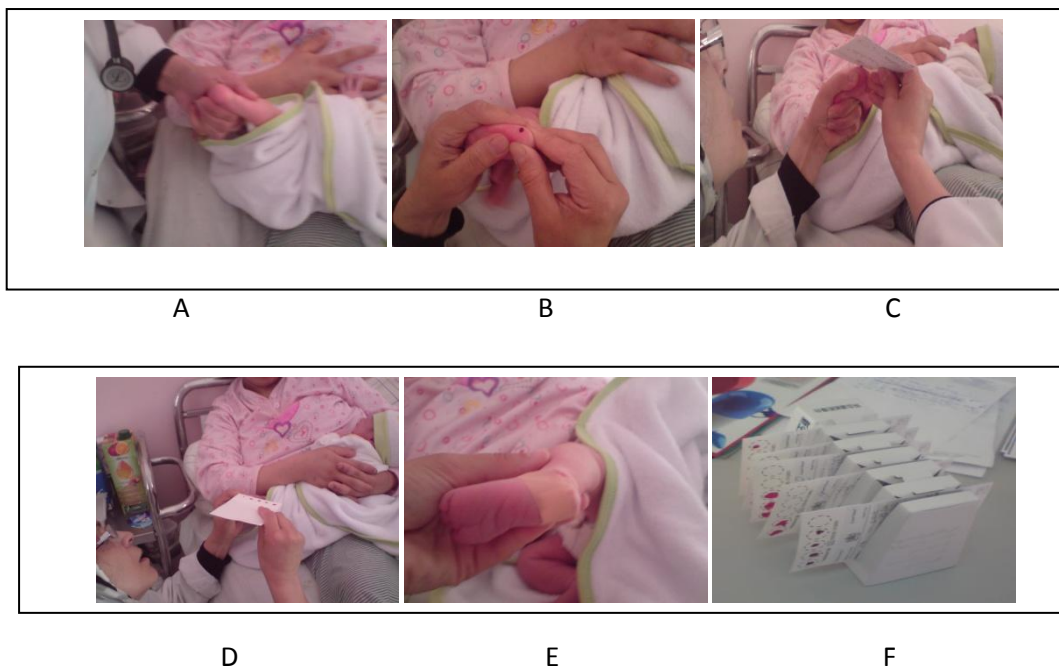


Figure 15 : (A, B, C, D, E et F) différents étapes du prélèvement.

2.3. Dosage de la TSH

2.3.1. Principe de dosage

La méthode DeifiahTSH - néonatale est un dosage immuno-fluorimétrique à deux-sites sur phase solide fondée sur le principe du « sandwich » direct dans lequel deux anticorps monoclonaux (provenant de souris) sont dirigés contre deux déterminants antigéniques distincts de la molécule d'hTSH.

Les standards, les contrôles et les échantillons contenant l'hTSH vont réagir simultanément avec les anticorps monoclonaux immobilisés dirigés contre un site antigénique spécifique de la sous-unité β d'hTSH et avec les anticorps monoclonaux marqués à l'euprotium dans la solution tampon (dirigés contre un site antigénique différent localisé en partie sous la sous-unité β et en partie sur la sous unité alpha). La solution tampon élué l'hTSH des tâches de sang séché sur le papier filtre. Le dosage complet nécessite une étape d'incubation.

La solution de développement dissocie les ions euprotium de l'anticorps marqué, qui forment alors des chélates hautement fluorescents avec les composantes de la solution de développement. La fluorescence est mesurée dans chaque puits, et est (de chaque échantillon) proportionnelle à la concentration de hTSH présente dans l'échantillon.

➤ *Limite de détection = 2 μ UI/ml.*

La Réactivité croisée : La réactivité croisée de la trousse DelfiahTSH néonatale avec les autres hormones est présente avec l'hormone folliculostimulante (hFSH), l'hormone corionique gonadotrophique (hHCG) et l'hormone lutéinisante (hLH).

2.3.2. Etape pré-analytique

a. *Vérification des papiers buvards*

Vérifier la cohérence des informations inscrites sur le papier buvard ainsi que la qualité du prélèvement sanguin. Demander un nouveau prélèvement si nécessaire (On s'assure qu'ils sont correctement imprégnés recto et verso).

b. *Préparation des réactifs*

- Vérifier la date de péremption du coffret (**figure 16, A**) ;
- Remettre à la température ambiante (20-25°C) au minimum 30 minutes avant utilisation
- Préparer les réactifs au minimum une heure avant leur utilisation (**figure 16, B**) ;
- Vérifier les niveaux de concentration des calibrant et contrôler les réactifs fournis dans chaque coffret.



A

B

Tableau 5 : Coffret et réactifs.

Préparation des réactifs	Stabilité après reconstitution
<p>Solution de lavage</p> <p>Verser 100 ml de solution de lavage concentrée dans un récipient propre et dilué par addition de 2400 ml d'eau distillée.</p>	<p>2 semaines à +2) °C - +25 °C</p> <p>dans un récipient fermé</p>
<p>Traceur anti hTSH-Eu</p> <p>Cette solution doit être diluée à la concentration désirée. Il est important que le tampon ne vienne pas en contact avec la solution mère de traceur, destinée à une utilisation ultérieure.</p> <p>Nous conseillons l'emploi d'un récipient en plastique jetable pour préparer la dilution de traceur.</p>	<p>Préparer au maximum une heure avant utilisation.</p>
<p>Barrettes de microtitration</p> <p>Transférer le nombre nécessaire de barrettes</p> <p>Microtitration sur le support. (Replacer les Barrettes restantes dans l'emballage en</p>	<p>Laver chaque bande avec le laveur automatique DELFIA Platewash en utilisant le programme 47 (prewash).</p> <p>Ne laver que le nombre de barrettes pouvant être facilement utilisées dans les 30mn</p>

plastique et refermer).

2.3.3. ETAPE ANALYTIQUE

a. Positionnement des puits

- Effectuer chaque détermination en double pour les standards et les contrôles (dans le laboratoire on effectue les standards en double mais pas les contrôles).
- Une courbe standard doit être établie à chaque série (4 plaques maximum).
- Placer en début de série les tests à vérifier, les réponses aux demandes de contrôle (en double).

b. Introduction des échantillons

Découper à l'emporte-pièce des disques de 3 mm dans des barrettes sèches, puis transférer par retournement dans les barrettes d'analyse lavées.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	S a	S a	S b	S b	S c	S c	S d	S d	S e	S e	S f	S f
B	C ₁	C ₂	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH
C	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH
D	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH
E	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH
F	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH
G	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH
H	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH	ECH

Si plus d'une plaque est nécessaire, les suivantes comprennent les contrôles C1 et C2 et une gamme toutes les séries de 4 plaques.

c. *Réalisation du dosage*

- Ajouter 200 μ l de solution de traceur diluée anti-hTSH-Eu dans chaque puits en employant la pipette Eppendorf-multipipette après avoir éliminé la première aliquote (**figure 17**).



Figure 17 : L'ajout du traceur diluée anti-hTSH-Eu

Eviter toute contamination en maintenant l'embout de la pipette légèrement au-dessus du puits sans le toucher, et la vider sans toucher la bande de puits en plastique ou la surface du liquide.

- Agiter rapidement pendant 10 minutes et incuber pendant 4 heures à température ambiante sous agitation lente. L'incubation commence lorsque le dernier support est préparé et a été agité pendant 10 minutes (**figure 18**).



Figure 18 : étape d'agitation.

ATTENTION: Chaque série (1 à 4 plaques avec sa gamme étalon) doit être agitée sur le même agitateur.

Après agitation rapide de 10 minutes, on peut également recouvrir le support avec une bande protectrice et laisser incuber toute une nuit au réfrigérateur (+2°C à + 8°C) sans agiter, puis incuber une heure supplémentaire à température ambiante sous agitation lente.

- Après incubation, retirer la solution et les disques de papier buvard des puits et laver chaque bande à l'aide d'un laveur automatique DELFIA Platwash en utilisant la programme 47 (wash) : 6 cycles de lavage.
- Ajouter dans chaque puits 200 µl de solution de développement directement à partir de sa bouteille en utilisant la pipette Eppendorf Multipette recommandée après avoir rincé le Combitip une fois avec la solution de développement. Remplir à nouveau le Combitip et éliminer la première aliquote. Eviter de toucher les parois des puits ou leur contenu.
- Agiter lentement le support pendant 5 minutes ;
- Mesurer la fluorescence au bout d'une heure.

Protocole normal	Protocole court
200 µL, couvrir (parafilm)	
Agitation «rapide» 10mn à température ambiante	
18 heures à +4°C	Agitation lente 4 heures à température ambiante
Agitation lente 1 heure à température ambiante	
6 lavages	
200 µl de solution de développement	
Agitation lente 5 mn	
Lecture dans l'heure qui suit	

2.4. DETECTION FINALE

Sélectionner le programme pour une mesure automatique et les calculs des résultats. Vérifier les paramètres du programme et créer un nouveau programme s'il diffère du programme suivant:

N° DE LA TROUSSE : 47 HTSH NEONATALE ;

TYPE DE DOSAGE : IFMA

METHODE DE CALCUL : SPLINE LISSE

AXE DES X : LINEAIRE

AXE DES Y : LINEAIRE

BLANCS : 0

STANDARDS : 6

REPETITION DES STANDARD : 7

CONCENTRATION DU STANDARD : 1,00 (a) ;

CONCENTRATION DU STANDARD : 10,00 (b) ;

CONCENTRATION DU STANDARD : 25,00 (c) ;

CONCENTRATION DU STANDARD : 50,00 (d) ;

CONCENTRATION DU STANDAPD : 100,00 (e) ;

CONCENTRATION DU STANDARD : 250,00 (f) ;

REPETITION DES ECHANTILLONS : 1.

II. Contrôle de qualité :

Le contrôle de qualité est un élément indispensable de l'assurance qualité d'un laboratoire d'analyses médicales. Il permet de :

- Prévenir les erreurs du processus analytique.
- Vérifier en continu les performances des réactifs et des équipements.
- Apporter la preuve de la validité technique des résultats.

1. Contrôle de qualité externe :

Le contrôle de qualité externe sert à la vérification de l'exactitude des analyses et facilite la comparaison inter-laboratoires avec d'autres méthodes (dont les méthodes de référence). Il est réalisé par un organisme tiers (CDC), et il permet l'évaluation des performances d'un laboratoire.

2. Contrôle de qualité interne :

Le contrôle de qualité interne (CQI) permet :

- La vérification de la précision et de l'exactitude du système analytique.
- La surveillance constante et la documentation de la qualité des processus analytiques.
- La garantie de la fiabilité des résultats d'analyses, qui seront utilisés à des fins diagnostiques et thérapeutiques.
- La validation des résultats et la prévention des erreurs.

- **Procédure du contrôle de qualité interne**

Pour chaque spécimen de contrôle utilisé dans un laboratoire, une procédure opératoire écrite, concernant les conditions de son exécution, doit être disponible au niveau des postes de travail. Chaque procédure doit définir les responsabilités en mentionnant le nom du biologiste responsable de l'assurance qualité, le nom du biologiste responsable du poste de travail et le nom des différents intervenants pour le traitement du contrôle et l'exécution des actions correctives.

Chaque étape du traitement du contrôle doit être notifiée : qui reconstitue le spécimen de contrôle, le répartit aux différents postes de travail, le partage en aliquotes pour conservation éventuelle et usages ultérieurs ? Qui observe, transcrit les résultats et les interprète ? Qui vérifie les stocks et effectue les commandes ?

La procédure doit indiquer le nom du contrôle et l'identification du fournisseur (adresse, téléphone, fax). Elle doit aussi mentionner la référence du contrôle, le numéro d'agrément, le numéro de lot, l'origine (animale, humaine), la nature (liquide, lyophilisé). Elle doit préciser les paramètres contrôlés, les valeurs cibles et les limites d'erreurs acceptables préalablement définies par le laboratoire ainsi que celles des méthodes proposées par le fabricant. Les conditions de préparation (contrôle liquide, prêt à l'emploi ou non, congelé, lyophilisé) sont précisées ainsi que les contraintes d'utilisation : temps d'attente, positionnement et séquence (après le calibrage ou dans la série). À chaque changement de lot, les valeurs cibles sont à revoir. À chaque utilisation, les numéros de lot doivent être vérifiés. La procédure doit indiquer le mode d'exploitation des résultats. La date de reconstitution et la durée de conservation sont mentionnées sur le contrôle. S'il doit être réparti en aliquotes, le numéro du lot sera également reporté sur chaque unité de conditionnement. Enfin, le lieu de stockage des contrôles reconstitués ou non doit être noté sur la procédure.

- **Documentation :**

◆ Les résultats du CQI doivent être représentés sous forme de tableaux et de graphiques, la documentation est réalisée sur papier ou support électronique.

◆ Tous les résultats doivent être conservés pendant 5 ans.

- **Fréquence de contrôle :**

Les systèmes analytiques doivent être contrôlés quotidiennement avant chaque série ou pour les analyses faites en continu.

- **Valeur cible :**

La valeur cible figurant dans le prospectus d'emballage est considérée comme valeur attendue.

Cette valeur cible peut être adaptée dans certains cas bien documentés.

- **Intervalle de tolérance :**

L'intervalle donné par le fabricant (fondé sur 3s), sert d'intervalle de tolérance.

La tolérance la plus sévère doit être retenue.

- **Critères du seuil d'alarme :**

Lorsqu'un résultat se trouve au-delà de la limite des 3s ou lorsque 2 résultats successifs se trouvent en dehors de la limite 2s, une alarme doit être déclenchée.

- **Base statistique :**

Partant de ses propres valeurs du contrôle de qualité (**voir annexe**), on peut constamment calculer les valeurs statistiques de base, spécifiques aux systèmes analytiques :

✓ Valeurs moyenne :

$$\text{Moyenne} = \mu = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$$

✓ L'écart type :

$$\text{Ecart type} = \sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \mu)^2}{n}}$$

✓ Coefficient de variation :

$$\text{CV} = \frac{s}{m} * 100$$

- **Détermination des seuils d'avertissement et d'alarme :**

Les seuils critiques sont établis à partir de la valeur moyenne et de la déviation standard.

Seuils d'avertissement:

- ✓ Seuil inférieur d'avertissement = valeur moyenne moins 2 s ($m - 2s$)
- ✓ Seuil supérieur d'avertissement = valeur moyenne plus 2 s ($m + 2s$)

✓ Seuil supérieur d'alarme =valeur moyenne plus 3 s ($m + 3 s$)

La fiche du CQI peut maintenant être préparée (voir résultats).

Résultats

Le contrôle de qualité interne est indispensable pour permettre de déceler les anomalies et les erreurs des mesures, pour y remédier immédiatement. Il est organisé par le biologiste qualifié chargé de l'assurance de qualité. Il comporte toutes les mesures destinées à vérifier les différentes phases de l'activité permettant l'obtention des résultats, et notamment l'analyse d'échantillons de contrôles à partir du quelle on obtient des cartes de contrôle proposée par Levey et Jennings en 1950, ces cartes sont des graphiques de contrôles normale (Cn) et contrôle pathologique (Cp) pendant une période donnée qui présentent la concentration du TSH en fonction des jours du dosage.

Ces cartes de contrôles présentant donc le graphique de Levey et Jennings des mois de Mars, Avril et Mai 2012 (voir annexe pour les valeurs).

➤ **Mars :**

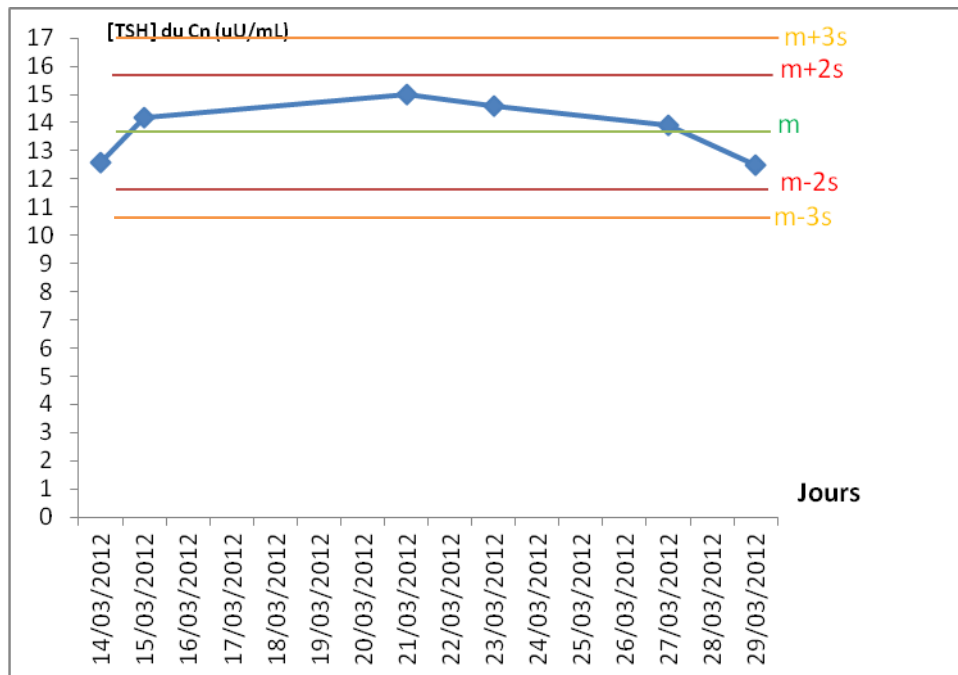


Figure 19 : carte de contrôle normale (Cn) du mois de Mars 2012.

Toutes les valeurs des contrôles normales se situent à l'intérieur du seuil d'avertissement (à l'intérieur de $m \pm 2s$ (moyenne ± 2 écart types)), c'est-à-dire l'exactitude et la précision suffisent aux exigences et que les résultats sont conformes.

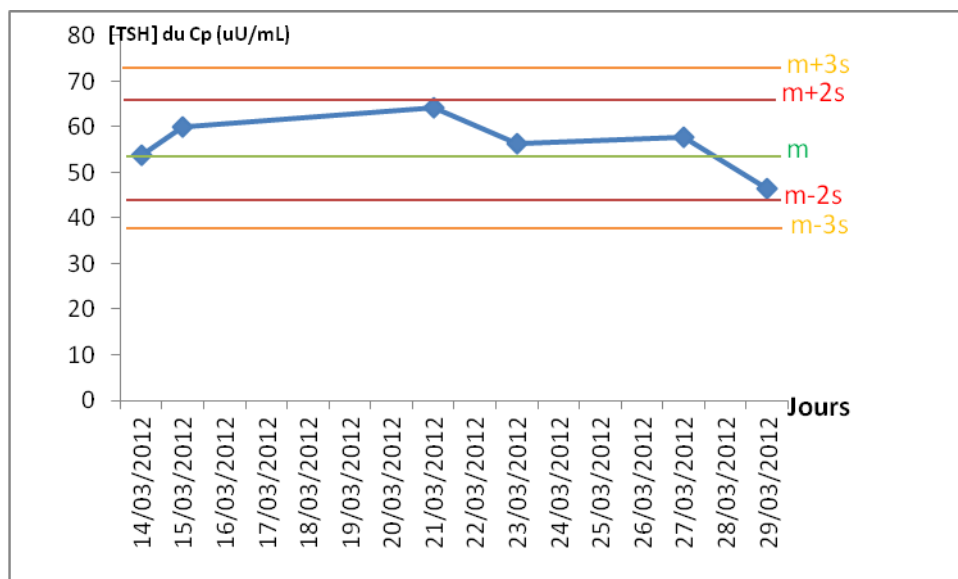


Figure 20 : carte de contrôle pathologique (Cp) du mois de Mars 2012.

Tous les valeurs des contrôles pathologiques se situent à l'intérieur du seuil d'avertissement, d'où la conformité des résultats.

►Le résultat du contrôle qualité interne est conforme puisque les valeurs des 2 contrôles Cn et Cp sont dans les normes, donc les résultats des échantillons des patients du mois de Mars sont utilisables.



Avril :

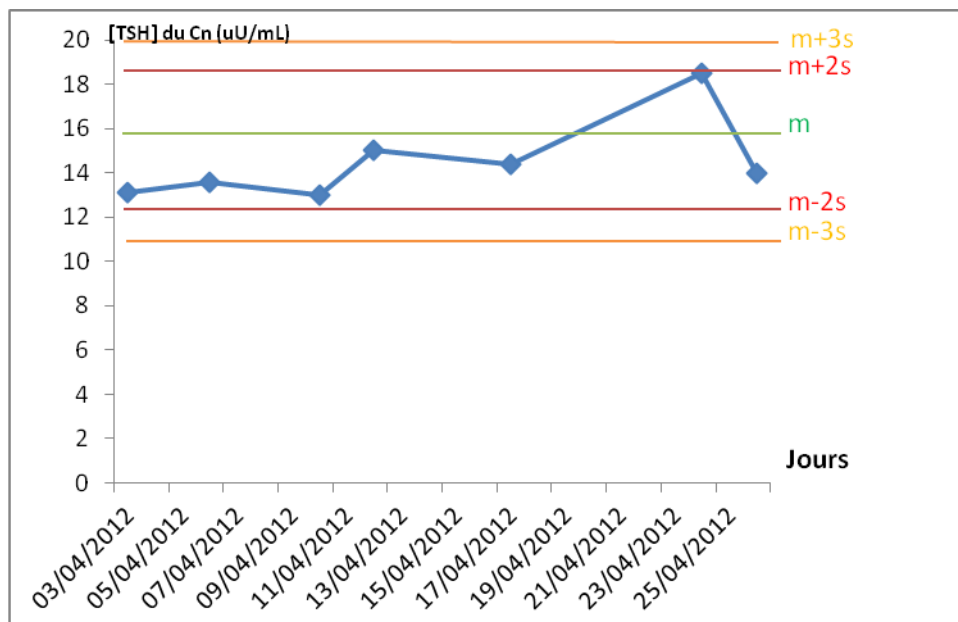


Figure 21 : carte de Cn du mois d'Avril 2012.

Les valeurs des contrôles se situent à l'intérieur du seuil d'avertissement sauf la valeur du 24 Avril qui est de 18,50 micros unités par ml ($\mu\text{U/ml}$) et qui est supérieur à la m+2s qui égale 18,29 $\mu\text{U/ml}$ d'où la nécessité de voir le contrôle pathologique de cette série.

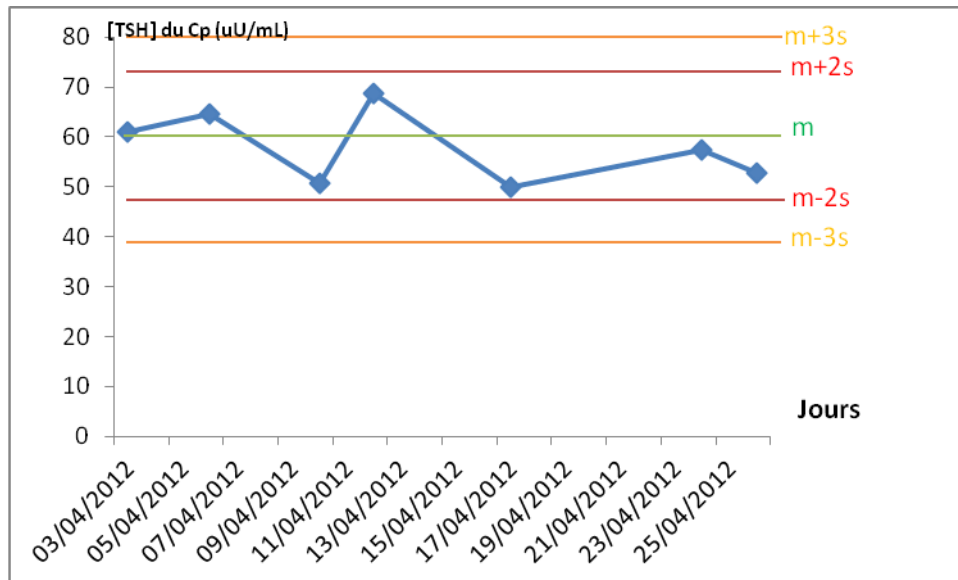


Figure 22 : carte de Cp du mois d'Avril 2012.

Les valeurs sont tous à l'intérieur du seuil d'avertissement et la concentration du TSH du 24 Avril pour le Cp est égale à 57,30 $\mu\text{U/ml}$ et elle est idéal puisqu'elle approche a la moyenne qui est de 57,86 $\mu\text{U/ml}$.

► On peut utiliser les résultats des échantillons des patients du mois de d'Avril même la série d'échantillons du 24 Avril puisque le Cp est normal donc peut être il y avait une simple contamination dans le puits du Cn, ou bien le Cn n'est pas bien dilué du coup la valeur supérieure au seuil d'avertissement.

➤ **Mai** :

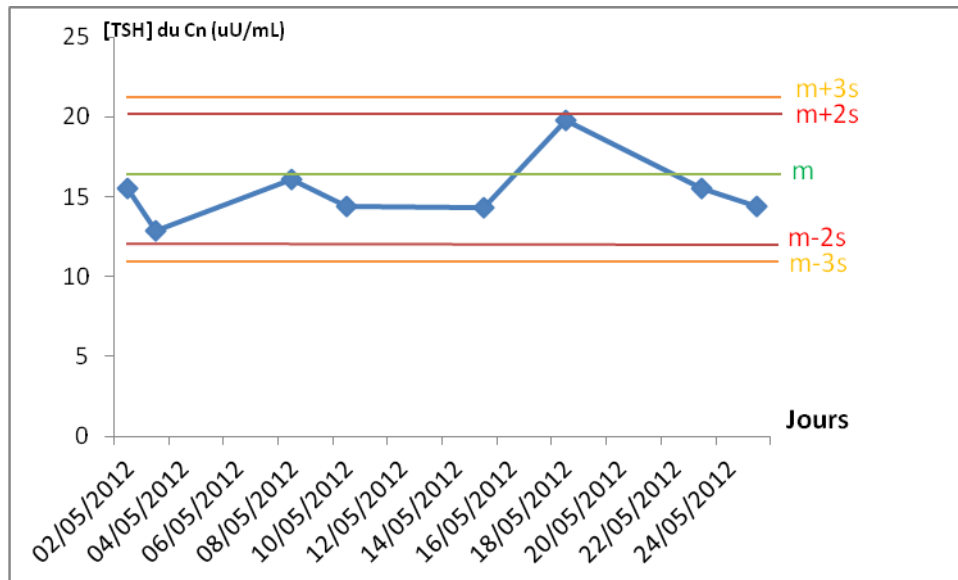


Figure 23 : carte de Cn du mois de Mai 2012.

Les valeurs du Cn sont à l'intérieur du seuil d'avertissement sauf celle du 18 Mai (19,80 μ U/ml) qui se trouve entre m+2s (19,46 μ U/ml) et m+3s (21,50 μ U/ml).

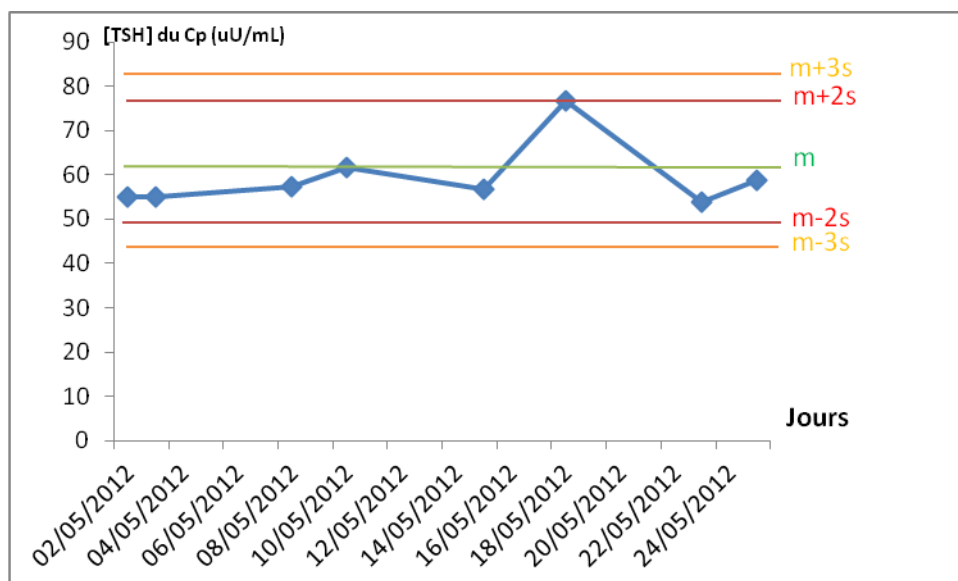


Figure 24 : carte de Cp du mois de Mai 2012.

Les valeurs du Cp sont à l'intérieur du seuil d'avertissement sauf celle du 18 Mai (59,46 μ U/ml) qui est entre m+2s (74,34 μ U/ml) et m+3s (81,77 μ U/ml).

► Le contrôle qualité est conforme, les résultats de l'échantillon du patient peuvent certes être utilisés, mais le déroulement du contrôle des échantillons du 18 Mai doit faire l'objet d'une analyse critique et le contrôle peut être répété, parce que le résultat se situe en dehors du seuil d'avertissement, mais à l'intérieur du seuil d'action.

Discussion

Les règles de contrôle ont pour but de signaler le moment où le contrôle ne mesure plus l'erreur de distribution attendue. Sur le graphique de Levey et Jennings, une erreur aléatoire est indiquée par une valeur de contrôle qui est significativement différente des autres, une erreur systématique par une dérive des valeurs.

Dans la pratique, un schéma simplifié à partir de deux niveaux de contrôle (carte de contrôle) à des seuils de décision est souvent utilisé par les biologistes. Normalement trois limites sont définies de part et d'autre de la moyenne 1 écart-type, 2 écarts-types (limite d'alerte), 3 écarts-types (limite de rejet). Parfois on n'a pas besoin de déterminer la limite de rejet (**figure 19**) parce que tous les points sont entre les deux limites d'avertissements.

- Avant la série : Après le calibrage s'il a lieu et, avant d'effectuer les dosages de patients, il est impératif de vérifier que toutes les valeurs des spécimens de contrôle sont comprises dans l'intervalle $m \pm 2$ écarts-types ($m \pm 2s$) et régulièrement dispersées de part et d'autre de la valeur cible. Cette dispersion est acceptable tant qu'elle reste égale ou inférieure à ± 2 écarts-types (**voir résultats figure 19, 20, 21 et 22**). Elle est inacceptable si elle est égale ou supérieure à $\pm 3s$ (**voir résultat graphe 23 et 24**). Si une ou plusieurs valeurs sont hors de cet intervalle, il faut entreprendre une action corrective.

- Au cours de la série : Si les valeurs obtenues pour chaque analyte dans les spécimens de contrôle sont comprises dans l'intervalle $m \pm 2s$ et régulièrement réparties autour de la valeur

cible, on peut procéder à la validation technique de la série des résultats de patients. Si plusieurs valeurs sont situées du même côté de la valeur cible, il s'agit d'une dérive nécessitant une action corrective.

Si les valeurs obtenues pour un ou plusieurs analytes, de l'un ou des deux spécimens de contrôle, s'écartent de $m \pm 3s$ de la valeur cible, les résultats de la série sont rejetés définitivement. Il est nécessaire d'identifier le type d'erreur et d'effectuer une action corrective.

- Si le (ou les) spécimen(s) de contrôle redosé (s) sont dans l'intervalle $m \pm 2s$, La série des résultats est validée c'est **le cas des échantillons du mois de Mars et d'Avril.**

- Si le (ou les) spécimen(s) de contrôle redosé (s) reste (nt) dans l'intervalle $m + 2$ et $+ 3s$ ou $m - 2$ et $- 3s$, la série n'est pas validée c'est le cas du série du 18 Mai 2012 d'où la nécessité de refaire le dosage des échantillons en question.

- Si l'un des spécimens de contrôle redosé reste supérieur aux limites $m + 2s$ et l'autre inférieur à $m - 2s$, la série n'est pas validée.

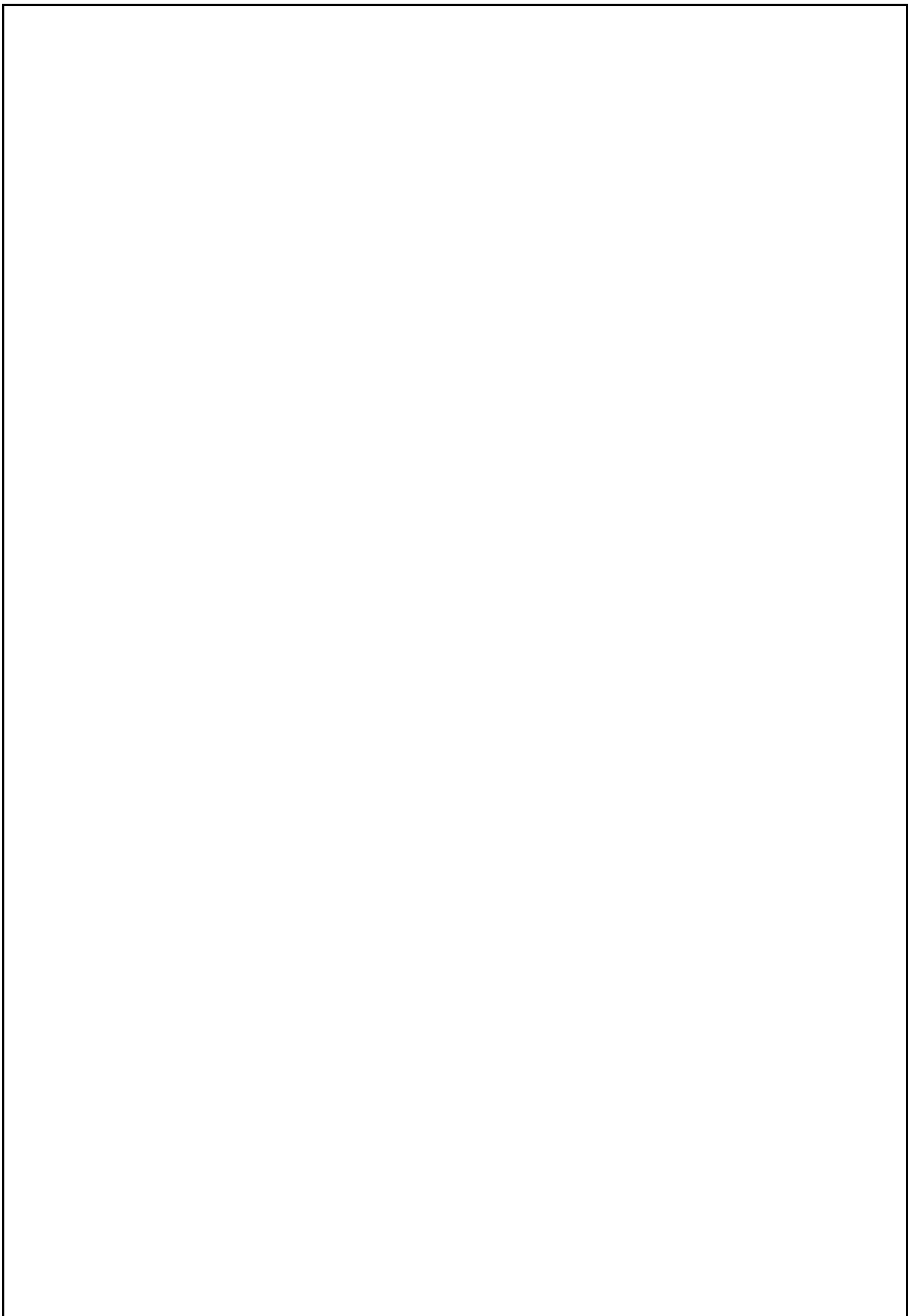
(Dans ces deux derniers cas, on identifie le type d'erreur et on effectue une action corrective). Dans notre cas les valeurs des contrôles du 18 Mai 2012 sont comprises entre $m + 2s$ et $m + 3s$ autour de la moyenne ce qui fait-on a effectué une seconde mesure des spécimens de contrôle pour les analytes concernés, mais les changements brusques des données, peuvent être attribués à un problème entraînant à chaque fois une nouvelle erreur.

Ceci se produit généralement lorsqu'on essaye une nouvelle méthode qui n'a pas encore assez d'expérience et qui est la méthode du protocole normal (over night) (voir étape analytique 2eme partie).

Donc après observation des résultats on a constaté que la méthode utilisée le 18 Mai 2012 et qui a donné des valeurs des contrôles élevés est la méthode over night qui n'est pas validée.

Mr Mohammed Saouifi travail sur cette méthode dans le laboratoire de Biochimie a la INH et essaye de l'évaluer et de la rendre valide.

→ Le suivi des résultats cumulés effectué chaque mois (ou chaque semaine) dans le laboratoire permet de contrôler l'imprécision et de corriger les anomalies avant qu'elles n'entraînent une erreur significative.



Conclusion

L'évolution de la pratique du contrôle de qualité conduit à une optimisation de sa gestion ainsi qu'à l'amélioration de la qualité des analyses biologiques. En effet, les résultats du contrôle national de qualité montrent que le dosage de certains paramètres est loin d'être maîtrisé. Nous devons donc poursuivre nos efforts pour faire évoluer les procédures de contrôle de qualité de façon à substituer au système actuel un échange d'informations inter-laboratoire quotidien et continu qui correspondra aux méthodes d'assurance qualité de demain.

A ce qui concerne l'HC qui est une affection grave car elle entraîne un retard mental irréversible si le traitement n'est pas démarré dès les premiers jours de vie, nous avons résumé par ce travail les données physiopathologiques de la fonction thyroïdienne chez le nouveau-né et mis en exergue les données épidémiologique réalisées à ce jour à l'échelle régional en vue de déterminer la nécessité d'un dépistage néonatal systématique au Maroc.

En effet seul le dépistage néonatal systématique permet de poser le diagnostic à un stade précoce et d'instituer un traitement adapté salvateur d'une pathologie lourde de conséquences individuelles et sociales.

En outre, nous insisterons sur le fait que le dépistage biologique reste simple et peu coûteux comparé au coût de la prise en charge des handicaps liés à cette affection.

En définitive, il est vivement recommandé d'adapter toutes les études réalisées aussi bien à Rabat qu'à Fès, d'instaurer le dépistage systématique néonatal dans notre pays et de convaincre les responsables de son utilité en vue d'enrayer des handicaps évitables.

Cependant, en attendant la généralisation du programme de dépistage systématique au Maroc, les médecins devront rester vigilants et demander un dosage de TSH au moindre doute d'hypothyroïdie.



Bibliographie

Référence bibliographiques :

1. **Pr.Kawakib EL ABIDA**, cours d'endocrinologie LST Biologie et Santé FST Fès Université Sidi Mohammed Ben Abdellah 2012.
2. L'hypothyroïdie congénitale, Encyclopédie Orphanet Grand Public, www.orpha.net/data/patho/pub/fr/HypothyroidiCongénitale-FRfrPub760v01, Maladies Rares, Septembre 2007.
3. **Maïté Tauber**. Hypothyroïdie congénitale , Service d'Endocrinologie Pédiatrique, INSERM EMI 363, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France, et service d'Endocrinologie, Hôpital Sainte-Justine, Université de Montréal, Québec, Canada. Octobre 2006.
4. **Marie-Dominique Beaulieu**, Dépistage de l'hypothyroïdie congénitale, MD, MSc, FCFP ; Professeure agrégée de médecine familiale, Université de Montréal (Québec) Janvier 1994.
5. **Juliane Léger**, Dépistage néonatal de l'hypothyroïdie congénitale : Devenir des jeunes

adultes. Service d'endocrinologie pédiatrique. Hôpital Robert Debré. Paris.
(2005).

6. Hypothyroïdie du nouveau-né et de l'enfant, Docteur Frédérique TIXIER, Service endocrinologie et diabétologie pédiatrique, Hôpital Femme Mère Enfant, Lyon Bron
Décembre (2010).
7. L'exploration biologique dans le diagnostic et la surveillance des maladies de la glande thyroïde. Institut nationale de la santé et de la recherche médicale. The national Académie of Clinical Biochemistry. Sous la direction de **Pierre Carayon** (Belgique), Société Française d'Endocrinologie Groupe de Recherche sur la Thyroïde (2002).
8. DELFIA Néonatal hTSH Fluoro-immuno-dosage en temps résolu Mode d'emploi. Réactif pour 960 dosages Fabriqué par : Wallac Oy, Mustionakatu6, Turku, Finlande pour usage diagnostique in vitro, PerkinElmer (fr).
9. **Vander, Sherman, Luciano**, PHYSIOLOGIE HUMAINE les mécanismes de fonctionnement de l'organisme, 5eme édition française, traduite par le Dr. Jean-Luc-Pradel, Eric P.widmair : Médical collège of Wisconsin, Kevin T. Strang : Univarcity of Wisconsin-madison (2009).
10. **Antonia Pérez-Martin**, Physiologie de la glande thyroïde, Département de Physiologie Faculté de Médecine Montpellier-Nîmes Service d'Exploration et Médecine Vasculaire Pr. Auzat -CHU de Nîmes.
11. Test de Guthrie chez les nouveau-nés, Institut National pour la Santé Publique et l'environnement, informations générales pour les parents, www.rivm.nl/hiehprik.
12. **Pr. De Thé** Biochimie : Synthèse des Hormones (2007).
13. **SHERWOOD**, PHYSIOLOGIE HUMAINE, 2eme édition.
14. **Léger A**, Structure et Physiologie Thyroïdienne. Editions Technique, ENC, Paris, Endocrinologie. Nutrition, 1991, 12p.
15. **Studer H. et Coll**, Heterogeneity of thyroïd cells. The basis for understanding thyroïd function and nodular goiter growth, Endocr. Rev. 1989, 10, 125-135.

16. **Ministère de la Santé**, Direction de la population, Guide à l'usage des professionnels de santé : dépistage néonatale de l'hypothyroïdie congénitale.

17. Encyclopédie médicale :

http://www.doctissimo.fr/html/sante/encyclopedie/index_encyclo_a.htm.

18. Dictionnaire médicale : <http://dictionnaire.doctissimo.fr/>.

19. American Academy of Family Physicians. Question brève: le dépistage néonatal. (2006).

20. Base de données nationale du nouveau-né Système de dépistage de l'information.

<http://www2.uthscsa.edu/nnsis/>. Consulté le Septembre 2, 2009.

Références Web-liographiques:

21. <http://www.carabin.fr/~telech//cours/PCEM%202/Biochimie/Hormones%20thyroïdiennes%20ed.pdf>
22. http://www.pharmacorama.com/Rubriques/Output/Hormones_TRH_TSHa3.php#245305
23. <http://www.em-consulte.com/article/76819/hypothyroïdie-congénitale#N10349>
24. http://www.afdphe.org/ewb_pages/h/hypothyroïdie-congénitale-depistage.php
25. <http://www.jle.com/fr/revues/medecine/mtp/e-docs/00/03/0D/41/article.md>
26. <http://www.aphp-actualites.fr/5114-hypothyroïdie-congénitale-vive-le-depistage-neonatal-aphp/>
27. <http://www.nouvelles.umontreal.ca/recherche/sciences-de-la-sante/20110719-statistiques-rassurantes-sur-les-nouveaux-presentant-la-cause-la-plus-frequence-de-deficience-intellectuelle-evitable.html>
28. <http://www.sciencedirect.com/>
29. <http://www.pharmodel.com/coach/hypothyroïdie.htm?fiche=953>
30. <http://www.leblogbebe.com/2009/05/lhypothiro%C3%AFdie-cong%C3%A9nitale.html>



Annexe

❖ **Données dans les maisons d'accouchement et les hôpitaux, monitoring 2010**

Ministère de la santé

Direction de la Population

Division de la SMI

Service de la PSM

Région	province	Nom de la structure	Nombre d'accouchement
Rabat Salé Zemmour Zaïr	Khemisset	Hôpital Khémisset	3440
		Hôpital Roummani	863
		Hôpital Tiflet	1969
		CSCA SAB (Kamouni)	96
		CSCA S. Abderrazek	173
		CSCA Oulmes	136
		CSCA Brachoua	44
		CSCA Zhiligua	11

	CSCA Tiddas	35
	CSCA Ghoualem	7
	CSCA Aït Mimoun	6
	CSCA Aït Yadine	0
	CSCA Jemaâ M.B.	0
	CSCA Sfassif	10
	CSCA Maaziz	46
	CSCA Aït Wahi	12
Rabat	Maternité des Orangers	7512* (césarienne ou bien les femmes qui resrent > 48 H)
	Maternité Souissi	14808
	M.A. Kouas	435
	M.A. Farah	488
Salé	Hôpital My Abdellah	7776
	CSCA Bouknadel	248
	M.A. CSCA EL Arjate	54
Skhirat Temara	Hôpital Sidi Lahcen	1239
	M.A. Sidi Yahya Zaïr.	225
	M.A. Aïn Aouda	414
	M.A. Skhirat	245
Total région		32780

❖ Les valeurs des contrôles normaux et pathologiques des mois de Mars, Avril et Mai 2012 selon les résultats de dosage du laboratoire de Biochimie INH Rabat :

✓ Mars :

MARS	Cn	Cp
14/03/2012	12,60	53,70
15/03/2012	14,20	60,10

21/03/2012	15,00	64,20
23/03/2012	14,60	56,40
27/03/2012	13,90	57,70
29/03/2012	12,50	46,60
MOYENNE(m)	13,80	56,45
ECARTYPE(s)	1,04	5,99
CV	7,52	10,62
m+2s	15,88	68,43
m-2s	11,72	44,47
m+3s	16,91	74,43
m-3s	10,69	38,47

✓ Avril :

AVRIL	Cn	Cp
03/04/2012	13,10	61,00
06/04/2012	13,60	64,70
10/04/2012	13,00	50,60
12/04/2012	15,00	68,70
17/04/2012	14,40	49,90
24/04/2012	18,50	57,30
26/04/2012	14,00	52,80
MOYENNE	14,51	57,86
ECARTYPE	1,89	7,26
CV	13,05	12,55
m+2s	18,29	72,38
m-2s	10,73	43,34
m+3s	20,20	79,63
m-3s	8,83	36,08

✓ Mai :

MAI	Cn	Cp
02/05/2012	15,50	55,10
03/05/2012	12,90	54,90
08/05/2012	16,10	57,40
10/05/2012	14,40	61,80
15/05/2012	14,30	56,90
18/05/2012	19,80	76,80
23/05/2012	15,50	54,00
25/05/2012	14,40	58,80
MOYENNE	15,36	59,46
ECARTYPE	2,05	7,44
CV	13,32	12,50
m+2s	19,46	74,34

m-2s	11,26	44,58
m+3s	21,50	81,77
m-3s	9,22	37,16

Circuit des prélèvements et de prise en charge de nouveau-nés

