

Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie du Mali

Année 1981

N° 2

IMPORTANCE DU CONTROLE DE QUALITE DES EXAMENS EN BIOCHIMIE CLINIQUE

THESE

Présentée et soutenue publiquement le Janvier 1982
devant l'Ecole Nationale de Médecine et de Pharmacie du Mali

par *Mady Hatouma SANOGO*
pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie
(Diplôme d'Etat)

Examineurs:

PRESIDENT : Professeur J. JOSSELIN

Professeur F. MIRANDA

MEMBRES Docteur G. GAUCHOT

Docteur Y. FOFANA

ECOLE NATIONALE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DU MALI

ANNEE ACADEMIQUE 1980 - 1981

DIRECTEUR GENERAL	Professeur Aliou BA
DIRECTEUR GENERAL ADJOINT	Professeur Bocar SALL
SECRETAIRE GENERAL	Monsieur Sory COULIBALY
ECONOME	Monsieur Diouncounda SISSOKO
CONSEILLER TECHNIQUE	Professeur Agrégé Philippe RANQUE

PROFESSEURS MISSIONNAIRES

Professeur Sadio SYLLA	Anatomie - Dissection
Professeur Francis MIRANDA	Biochimie
Professeur Michel QUILICI	Immunologie
Professeur Humbert GIONO-BARBER	Pharmacodynamie
Professeur Jacques JOSSELIN	Biochimie
Professeur Jean-Paul MACTINEAUD	Physiologie
Professeur Michel POUSSET	Matières médicales
Docteur Bernard LANDRIEU	Biochimie
Docteur Gérard TOURAME	Psychiatrie
Docteur Jean DELMONT	Santé Publique
Docteur Boubacar CISSE	Toxicologie - Hydrologie
Docteur P. GIONO-BARBER	Anatomie - Physiologie humaines
Docteur Thérèse FARES	Anatomie - Physiologie humaines

PROFESSEURS TITULAIRES RESIDANT A BAMAKO

Professeur Aliou BA	Ophtalmologie
Professeur Bocar SALL	Anatomie - Orthopédie - Traumatisme - Secourisme
Professeur Mamadou DEMBELE	Chirurgie Générale
Professeur Mohamed TOURE	Pédiatrie
Professeur Souleymane SANGARE	Pneumo-Phtisiologie
Professeur Mamadou KOUMARE	Pharmacologie - Matières médicales
Professeur Mamadou Lamine TRAORE	Obstétrique - Médecine Légale
Professeur Aly GUINDO	Gastro-Entérologie
Professeur Abdoulaye Ag-RHALY	Médecine Interne
Professeur Yaya SIMAGA	Santé Publique
Professeur Siné BAYO	Histologie - Embryologie - Anatomie pathologique
Professeur Abdel Karim KOUMARE	Anatomie - Chirurgie
Professeur Bréhima KOUMARE	Bactériologie
Professeur Mamadou Koreissi TOURE	Sémiologie cardio-vasculaire
Professeur Philippe RANQUE	Parasitologie
Professeur Bernard DUFLO	Pathologie médicale - Thérapeutique - Physiologie
Professeur Robert COLOMAR	Gynécologie - Obstétrique
Professeur Oumar COULIBALY	Chimie Organique
Professeur Adama SISSOKO	Zoologie
Professeur Bouba DIARRA	Microbiologie
Professeur Salikou SANOGO	Physique

ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Docteur Abderhamane Sidéye MAYGA	Parasitologie
Docteur Sory KEITA	Microbiologie
Docteur Yaya FOFANA	Microbiologie - Hématologie
Docteur Sory Ibrahima KABA	Santé Publique
Docteur Moctar DIOP	Sémiologie chirurgicale

ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

(suite)

Docteur Balla COULIBALY	Pédiatrie - Médecine du Travail
Docteur Bénitiéni FOFANA	Obstétrique
Docteur Boubacar CISSE	Dermatologie
Docteur Souleymane DIA	Pharmacie Chimique
Docteur Youcouba COULIBALY	Stomatologie
Docteur Sanoussi KONATE	Santé Publique
Docteur Issa TRAORE	Radiologie
Docteur Assitan SY SOW	Gynécologie

CHARGES DE COURS

Professeur Niamanto DIARRA	Mathématiques
Professeur N'Golo DIARRA	Botanique - Cryptogamie - Biologie végétale
Professeur Souleymane TRAORE	Physiologie Générale
Docteur Gérard GAUCHOT	Microbiologie
Docteur Gérard TRUSCHEL	Anatomie - Sémiologie chirurgicale
Docteur Boul Kassoum HAIDARA	Galénique - Diététique - Nutrition
Docteur Philippe JONCHERES	Urologie
Docteur Hamadi Mody DIALLO	Chimie Analytique
Docteur Aliou KEITA	Galénique
Docteur Abdoulaye DIALLO	Gestion - Législation
Docteur Saïbou MAIGA	Galénique
Monsieur Cheick TIDIANI TANDIA	Hygiène du milieu

A MON PERE,

Amour filial.

A MA MERE,

Mes meilleures pensées. Témoinage du respectueux dévouement de tous tes enfants. Longévité.

A TOUS MES FRERES ET SOEURS,

Fraternelle considération.

Qu'ils trouvent ici l'expression de mon sentiment de gratitude pour l'attention qu'ils m'ont accordée durant mes études.

A LA MEMOIRE DE MADAME SYLLA PAYMA,

Combien serait-elle heureuse de partager avec moi la joie de ce jour inoubliable !

**A TOUS MES COUSINS ET COUSINES,
A TOUS MES PROCHES PARENTS,**

Reconnaissance et chaleureux remerciements pour votre attention parentale.

AUX FAMILLES SYLLA, DIAKITE et FOFANA,

Pour la courtoisie, la gentillesse de leur accueil.

Mes remerciements vont à tous mes amis qui, d'une manière ou d'une autre, m'ont aidé durant mes études. Fidèle amitié.

**A TOUTE LA PROMOTION 1976-1981 DE L'ECOLE
NATIONALE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE,**

Courage dans la vie.

***JE VOUDRAIS REMERCIER PARTICULIEREMENT NOTRE
MAITRE, LE PROFESSEUR ALIOU BA, DIRECTEUR GENERAL
DE L'ECOLE NATIONALE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE,***

dont le seul souci est la bonne formation de ses étudiants.

***MES REMERCIEMENTS VONT A TOUS LES PROFESSEURS
DE L'ECOLE NATIONALE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE.***

***A TOUT LE PERSONNEL DE L'ECOLE NATIONALE DE
MEDECINE ET DE PHARMACIE,***

qui s'est dévoué à notre cause.

Qu'il trouve ici l'expression de ma gratitude.

*MES REMERCIEMENTS VONT A TOUT LE PERSONNEL
DU LABORATOIRE DE BIOCHIMIE DE L'HOPITAL NORD
ET DE LA FACULTE DE MEDECINE SECTEUR NORD DE
MARSEILLE,*

pour avoir rendu très agréable notre séjour.

*JE VOUDRAIS REMERCIER PARTICULIEREMENT MADAME
THERESE LE TREUT, MESSIEURS J.P. ROSSO ET P.GRANIER,*

pour m'avoir bien aidé pendant la préparation de ce mémoire.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR MIRANDA,

*qui a bien voulu nous proposer ce sujet, qui nous a accepté dans son
laboratoire, et qui, enfin, a déployé des efforts inestimables dans
tous les domaines pour que nous puissions mener à bien ce travail.*

Qu'il reçoive ici toute notre gratitude et tous nos remerciements.

INTRODUCTION

INTRODUCTION

A l'époque où toute analyse exigeait un long travail, l'analyste, véritablement analyste, faisait tout lui-même, depuis la solution titrée jusqu'au dosage terminal : le spectrophotomètre n'avait pas remplacé son oeil, les burettes automatiques ses doigts. C'était long!

Que cela paraît loin ! Depuis, l'analyste s'est vu proposer de nouveaux instruments. Puis vint un jour où il lui fût présenté de merveilleuses machines automatiques. Dès lors, l'analyste n'eut plus qu'à placer l'échantillon dans une cuve à l'entrée, et à recueillir le résultat imprimé à la sortie.

Le biochimiste pouvait, devait douter de lui-même, de ses gestes. Comment oserait-il douter d'un si magnifique outil, des solutions titrées, des réactifs standardisés, des sérums de référence qui l'accompagnent ? Aucune erreur ne doit plus, ne peut plus être possible ! Et pourtant !

Alors, de directe, la responsabilité du biologiste tend à devenir de plus en plus indirecte, c'est-à-dire plus diluée, plus difficile à exercer. Il doit plutôt surveiller les autres, les autres qui souvent représentent un tel potentiel qu'il paraît bien outreucidant de les mettre en cause.

A la fin de l'ère artisanale de la biochimie clinique, on peut se demander si, entre le biochimiste savant qui crée des méthodes et le biochimiste industriel qui crée des machines, il y aura encore place pour le biochimiste tout simple qui, seulement au contact des malades et des cliniciens, entre ceux-ci et la machine, interpose

son sens critique, son bon sens et son honnêteté professionnelle. Si ce biochimiste doit encore subsister, son rôle sera sans doute un rôle de surveillance, de contrôle.

Historiquement, le contrôle de qualité est apparu en 1947 avec l'enquête de Belk et Sunderman (1947) sur la précision des méthodes des laboratoires de Pennsylvanie.

Les efforts des auteurs qui ont insisté depuis de nombreuses années sur la nécessité d'améliorer la qualité des analyses portent actuellement sur deux points essentiels :

- 1°) - Contrôle de qualité au niveau de chaque laboratoire, la vérification s'exerçant sur la qualité des techniques, des réactifs, des appareils et du travail effectué.
- 2°) - Contrôle de qualité interlaboratoires permettant d'envisager une standardisation des techniques.

La carte de contrôle, permettant de porter sur un graphique la valeur moyenne et la variance globale obtenues, est devenue un instrument de travail quotidien dans la plupart des laboratoires.

Il est bon de rappeler trois des impératifs que doit suivre le contrôle de qualité :

- 1°) - Le laboratoire doit contrôler la validité de la technique choisie pour l'analyse.
- 2°) - Le laboratoire doit contrôler la validité des réactifs utilisés pour exécuter la technique choisie.
- 3°) - Le laboratoire doit contrôler la validité du processus opératoire utilisé pour exécuter la technique choisie.

Dans ce travail, nous parlerons des données générales sur le contrôle de qualité en chimie clinique, des sérums de contrôle, des résultats de nos méthodes de contrôle sur des appareils automatiques (SMA, ASTRA, MULTISTAT), sur un appareil sémi-automatique (électrophorèse) et sur des techniques manuelles. Nous terminerons par une discussion générale.

I ère PARTIE

**DONNEES GENERALES
SUR LE CONTROLE DE QUALITE
EN CHIMIE CLINIQUE**

CHAPITRE I

DEFINITIONS DE BASE

I - EXACTITUDE

Elle est définie par le degré de concordance entre le résultat obtenu et la valeur "vraie". Cette définition inclut le concept de valeur vraie, si tant est que l'on puisse déterminer cette valeur vraie. Elle introduit le besoin de valeurs de référence ; mais il ne faut pas oublier qu'une solution aqueuse d'un produit rigoureusement pesé se comporte parfois d'une manière très différente du sérum.

Enfin, il est difficile de dissocier l'exactitude de la spécificité. Prenons l'exemple du glucose sanguin. La méthode à la glucose-oxydase est incontestablement plus spécifique que les méthodes du type de celle décrite par Folin et Wu. Il faut bien savoir si la technique apprécie le seul produit à doser.

L'exactitude est donc difficile à atteindre en chimie clinique. On ne peut même pas toujours espérer que le résultat vrai puisse être obtenu par comparaison avec une solution contenant une quantité très exactement pesée de substance. Au cours du dosage dans le sérum sanguin, il peut se produire des interférences avec d'autres substances, qui ne sont pas prévisibles. De plus, l'exactitude d'une méthode nouvelle doit être établie pour toute l'échelle de concentration dans laquelle la méthode peut être appliquée en biologique clinique. Or, on sait que l'amplitude des variations pathologiques est considérable dans de nombreux cas (exemple de la bilirubine).

II - PRECISION

La précision est définie par la concordance d'une série de mesures de la même quantité. C'est aussi la fidélité avec laquelle la répéti-

tion des analyses peut être faite. C'est encore une mesure de reproductibilité.

1 - Elle est exprimée par la déviation standard ou par le coefficient de variation. La déviation standard ou écart-type σ est une mesure de dispersion des valeurs calculée par la formule :

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum (\bar{X} - x)^2}{N - 1}} \quad \text{où : } \begin{cases} X = \text{valeur observée} \\ N = \text{nombre de déterminations} \\ \bar{X} = \text{Moyenne } \left(\frac{\sum X}{N}\right) \end{cases}$$

2 - Classiquement, la distribution des résultats due au hasard peut être représentée graphiquement par une courbe de fréquence dite "Courbe de Gauss", revêtant la forme d'une cloche (fig. n° 1). La distribution est appelée normale. Mathématiquement, 68,3% des résultats tombent dans la zone comprise entre la valeur

$$\bar{X} + 1\sigma \text{ et } \bar{X} - 1\sigma, \quad 95,5\% \text{ dans la zone } \bar{X} + 2\sigma \text{ et } \bar{X} - 2\sigma \\ 99,7\% \text{ entre la valeur } \bar{X} + 3\sigma \text{ et } \bar{X} - 3\sigma$$

Les paramètres d'une distribution sont :

- . La médiane, valeur de l'observation qui partage la série en deux nombres égaux ;
- . la moyenne, définie comme dans la distribution normale ;
- . le mode, valeur de l'observation dont la fréquence est maximale.

Ces trois valeurs sont confondues dans une distribution gaussienne.

3 - Le coefficient de variation (ou coefficient d'erreur) exprime la déviation standard en pourcentage de la moyenne, c'est-à-dire qu'il est obtenu par la formule :

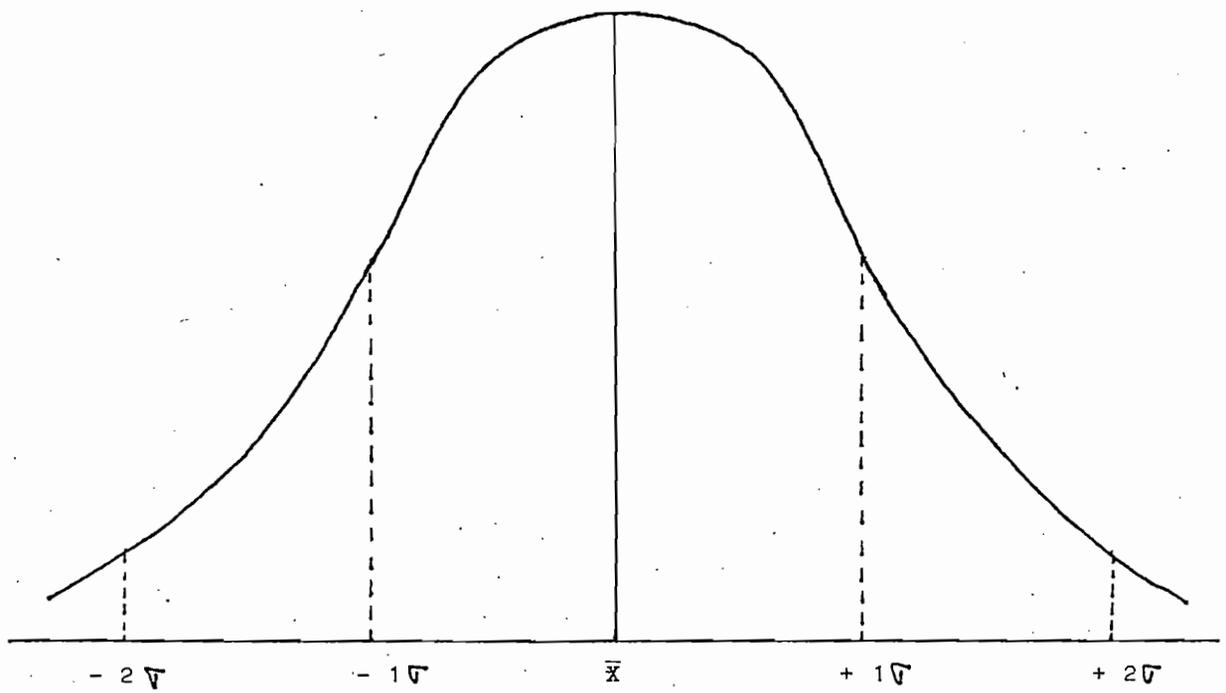


Figure n° 1 : Courbe de Gauss

$$CV = \frac{\sigma \times 100}{\bar{X}} \quad \text{où :}$$

CV = coef. de variation

σ = déviation standard

\bar{X} = moyenne

Plus la dispersion, comparativement à la moyenne, est petite, plus le coefficient de variation est petit. En principe, il doit être inférieur à 10 et même à 5 dans les méthodes d'analyse clinique.

La déviation standard calculée à partir d'une série d'analyses répétées sur un seul lot peut être distincte de celle que l'on détermine sur plusieurs lots différents (Broughton et Annan, 1971). Il y a donc intérêt à utiliser plusieurs lots.

4 - La répétabilité est la mesure de la déviation des résultats à partir de la valeur moyenne obtenue par un technicien, sans changement de technique ou d'appareils.

La notion de précision incorpore aussi celle de la répétabilité et de la reproductibilité..

5 - La reproductibilité, d'après Whitby, Michell et Moss (1967), est la mesure de la déviation des résultats à partir de la moyenne, les déterminations étant faites sur une période de plusieurs semaines ou de plusieurs mois par différents techniciens qui ne connaissent pas l'identité des échantillons qu'ils utilisent pour assurer la détermination de la qualité de la performance de la technique. Ils faut d'abord, en biochimie clinique, déterminer la répétabilité, puis la reproductibilité, dans les conditions normales de travail du laboratoire. Enfin, la précision, à l'intérieur d'un laboratoire, est incontestablement supérieure à celle que l'on peut trouver entre plusieurs laboratoires (Barnett, 1968).

III - AUTRES TERMES A DEFINIR

1 - La sensibilité est le résultat le plus petit qui peut être distingué, avec certitude, de zéro.

2 - La "sécurité" (reliability) est une propriété générale qui correspond à la capacité de maintien de l'exactitude, de la spécificité, de la sensibilité et de la reproductibilité durant une période prolongée pour ce laboratoire.

3 - L'erreur : Elle a une définition plutôt ambiguë. Ce terme doit être utilisé seulement dans la comparaison des résultats obtenus par la même méthode d'analyse. On peut distinguer l'erreur due à l'inexactitude (erreur systématique) et l'erreur due à un manque de précision. Henry (1969), définit l'erreur totale par la formule :

$$\text{Erreur totale} = \sqrt{P^2 + D^2 + A^2 + L^2}$$

P = Variation entre les analyses en double effectuées sur le même lot de détermination.

D = Variation entre les jours pour le même technicien sur le même échantillon dans le même laboratoire.

A = Variation entre les techniciens du même laboratoire effectuant la même analyse sur des échantillons identiques.

L = Variation entre les laboratoires, mise en évidence, par exemple, par les expertises interlaboratoires.

En contrôle de qualité, sous sa forme actuelle, on parle toujours de l'erreur maximum acceptable dans les conditions analytiques, mais en la comparant toujours à l'erreur cliniquement tolérable, c'est-à-dire la confrontation de l'erreur méthodologique avec les exigences des valeurs médicalement significatives.

Les limites de l'exactitude et de la précision d'une mesure doivent être fixées en tenant compte de sa destinée médicale, c'est-à-dire, répondre à la question : *"De combien une valeur analytique d'un patient doit-elle varier pour représenter un changement chez le patient et non pas une variation due au système de mesure ?"*.

La première tentative d'évaluation des limites d'erreur en rapport avec la signification clinique de l'analyse a été faite par Tonks (1963) qui a établi une formule empirique :

Limites admissibles de l'erreur ("Allowable Limits of Error")
ou Erreur Limite Acceptable (E.L.A.) =

$$\pm \frac{1/4 \text{ de l'intervalle des limites normales}}{\text{moyenne des valeurs normales}} \times 100$$

Pour cet auteur, une méthode analytique donnant une erreur supérieure au 1/4 de l'intervalle des limites normales n'est pas utilisable en clinique.

4 - Le taux de décision représente les valeurs au-delà desquelles il faut envisager ou non un diagnostic, ou mettre en place ou non une thérapeutique.

IV - STANDARDS ET CONTROLES

Les termes standards et contrôles constituent un autre aspect fondamental des définitions de base que nous essayons de préciser. Il existe une grande confusion dans leur utilisation (Hanson, 1970).

1 - Un standard primaire est une substance chimique pure qui est utilisée pour l'essai d'une solution volumétrique de taux inconnu ou pour la préparation d'une solution de concentration connue. Cette substance doit être stable, doit pouvoir être séchée à 105-110°C sans changement dans sa composition, posséder une masse molaire relativement élevée pour éviter les erreurs de pesée et doit pouvoir être facilement analysée. Elle doit être évidemment pure (Mears et Young, 1968).

La qualité est un fait essentiel en ce qui concerne le standard pri-

maire : l'utilisation d'un standard qui donne des valeurs plus basses que la moyenne entraînera l'établissement de valeurs faussement élevées.

2 - Une solution de standard primaire clinique est faite à partir d'une quantité connue d'une substance standard primaire diluée avec précision dans un volume connu. Le solvant doit être libre de quantités décelables de la substance à ajouter.

3 - Une solution de standard secondaire clinique est une solution d'une substance qui ne peut pas être obtenue dans un état de pureté suffisant pour être considérée comme un standard primaire. La concentration de la substance est alors déterminée par des analyses chimiques.

4 - Le matériel référence ou le contrôle de référence simule un échantillon provenant d'un patient inconnu (exemple des sérums de contrôle). D'après Logan et Allen (1968), le sérum commercial de contrôle ne peut pas être utilisé à la place d'un standard primaire, si le constituant à doser peut être obtenu sous une forme pure ou en solution stable.

L'idéal est d'introduire, dans chaque série de dosages, un sérum de contrôle et une solution standard. Le sérum de contrôle est soumis aux mêmes erreurs que les sérums à étudier.

Le contrôle peut se faire soit à partir d'un pool de sérums humains congelés ou lyophilisés, soit à partir de sérums commerciaux à valeur donnée.

Certains auteurs parlent de "standards dans le sérum" : ils ont été obtenus par addition d'une quantité pesée de la substance à du sérum dialysé. Cette technique n'est valable que pour les substances dialysables.

Whitby, Michell et Moss (1967) conseillent donc :

- . un standard
- . un blanc
- . des sérums de contrôle (sérum de zone normale et sérum de zone "anormale").

Dans les dosages effectués par méthode automatique, il faut au moins un contrôle pour 40 échantillons. Pour obtenir une mesure de précision reflétant les performances de routine du laboratoire, il est préférable que les échantillons de contrôle soient distribués au hasard et non de façon séquentielle (Broughton et Annan, 1971).

Généralement, les sérums de contrôle sont soit des pools de sérums humains normaux ou anormaux, soit des sérums inactivés par chauffage et supplémentés, soit des solutions, dans la sérum-albumine, d'enzymes purifiées d'origine humaine ou animale. Leur fabrication présente d'énormes difficultés et doit tenir compte essentiellement des facteurs suivants :

- . Utiliser des méthodes de dosage "up to date" et non des méthodes désuètes ;
- . définir une date de péremption ;
- . expliquer très précisément les méthodes et l'appareillage utilisés, indiquer le nombre d'essais, la précision, l'exactitude, etc. . .
- . mentionner la source, la pureté, la stabilité des enzymes ajoutés ;
- . faire contrôler les valeurs données par un laboratoire de bonne réputation et "indépendant".

Moss (1970) insiste aussi notamment sur le problème de la conservation des enzymes. La présence d'interférences (solution/air, solution/verre), les variations de température, le changement de pH, la concentration de certains réactifs peuvent être des agents dénaturants.

CHAPITRE II

COMMENT PEUT SE FAIRE LE CONTROLE ?

I - UTILISATION DE SERUMS DE CONTROLE TITRES

De par les garanties entourant les valeurs annoncées, les solutions de contrôle titrées permettent au laboratoire préparant lui-même ses réactifs, un contrôle global d'une technique donnée portant sur la qualité des réactifs, des appareils utilisés, du travail effectué. Ceci permet de mettre en évidence une anomalie qu'il faudra ensuite localiser.

L'utilisation de réactifs prêts à l'emploi et des valeurs annoncées pour les résultats des dosages sur une solution de contrôle titrée permet un contrôle plus fin portant sur l'absence de contamination dans le processus expérimental, le bon fonctionnement des appareils de lecture, le travail de l'expérimentateur.

Ces sérums titrés permettent donc de vérifier qu'une technique manuelle, semi-automatique ou automatique donnée est utilisée de façon satisfaisante au laboratoire. Mais ils ne donnent que des informations limitées sur la spécificité des techniques.

II - UTILISATION DE SERUMS DE CONTROLE NON TITRES

Lorsqu'est utilisée une technique pour laquelle aucun chiffre n'est annoncé dans les notices des solutions de contrôle titrées, les sérums non titrés pourront intervenir pour un contrôle de reproductibilité après que le laboratoire ait défini ses propres normes par le calcul de l'écart-type. Il faut noter toujours que l'on n'obtient ainsi aucune information sur la qualité de la technique ou des résultats, ni sur l'exactitude de l'étalonnage.

Par contre, lorsque le laboratoire a vérifié à l'aide de solutions de contrôle titrées, que la technique utilisée est exécutée de façon satisfaisante et que tous les problèmes de réactifs et de matériel sont exclus, le contrôle de la reproductibilité de résultats correctement établi pourra être réalisé de façon plus économique avec des sérums de contrôle non titrés. L'opérateur pourra ainsi définir son écart-type et accompagner ses analyses de l'incertitude qui leur est relative.

Ces sérums non titrés peuvent aussi intervenir dans le cadre du contrôle interlaboratoires pour analyser un paramètre donné dosé par différentes techniques manuelles ou automatiques.

CHAPITRE III

CARTES DE CONTROLE

Whitby, Michell et Moss (1967) conseillent, nous l'avons dit, le standard, les blancs, les sérums de contrôle. Mais ils insistent aussi sur l'utilisation des cartes de contrôle ("control charts").

I - GRAPHIQUE DE LEVEY-JENNINGS (OU GRAPHIQUE \bar{X})

La méthode des cartes de contrôle a été introduite en chimie clinique par Levey-Jennings en 1950. Un échantillon de contrôle est dosé une ou deux fois par jour et les résultats sont portés sur des cartes. On peut déterminer la valeur moyenne, la déviation standard et le coefficient de variation, par exemple, tous les mois.

Sur la représentation graphique figurent : au centre, la valeur de la moyenne et deux séries de trois autres lignes en périphérie correspondant aux limites $\pm 1\sigma$, $\pm 2\sigma$ et $\pm 3\sigma$ (figure 2).

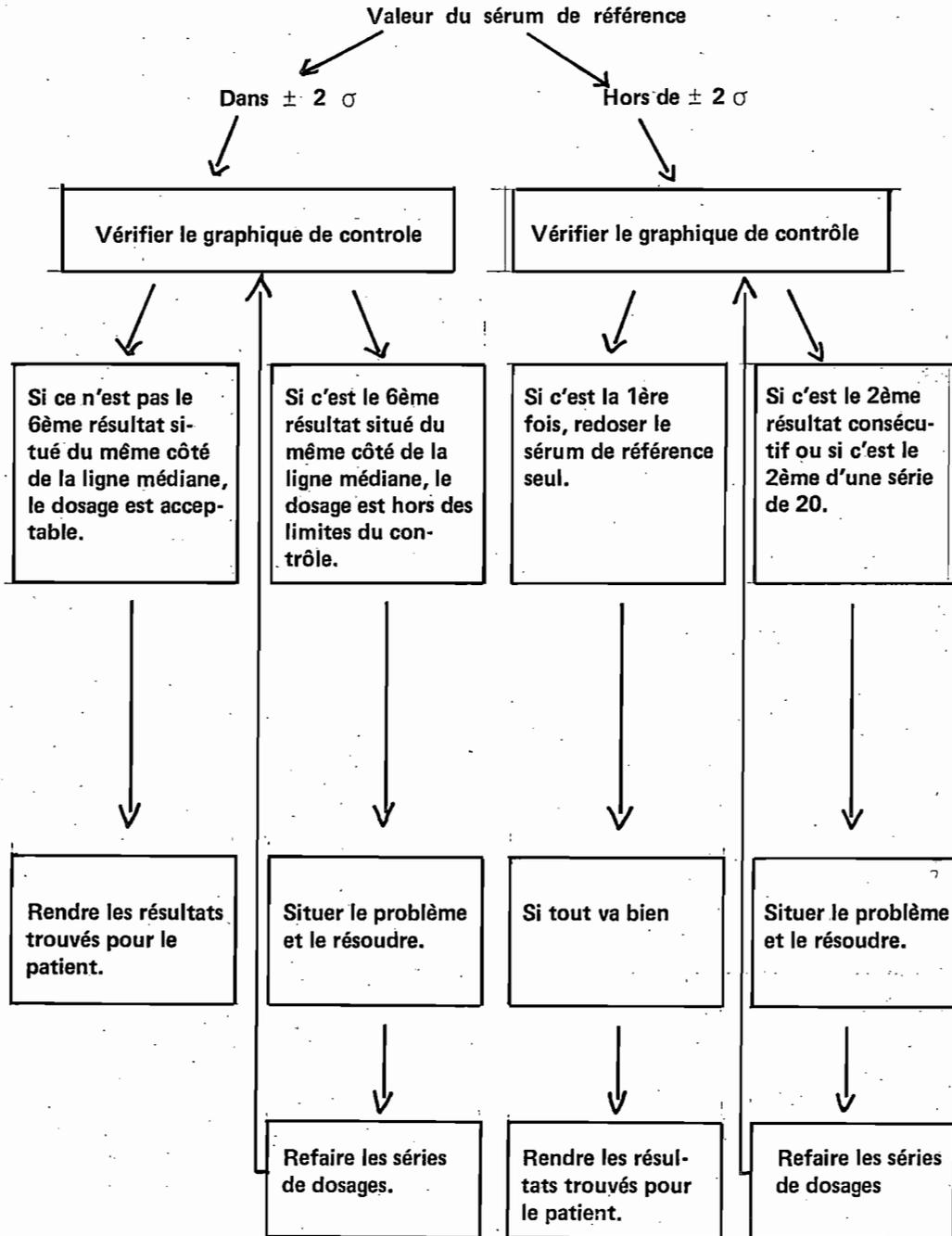
Les limites $\pm 2\sigma$ sont des "limites d'avertissement" et les limites $\pm 3\sigma$ sont des "limites d'action". On peut ainsi apprécier la précision journalière et on est rapidement alerté si celle-ci est devenue mauvaise, consécutivement à une détérioration du standard, des réactifs ou de l'appareillage.

Interprétation du graphique \bar{X} : voir page 13.

II - METHODE DES "CUMULATIVE SUM CHARTS" OU CUSUM

Elle est également très utilisée. Pour ce système, la détermination de l'écart-type n'est plus nécessaire. Si X_1 , X_2 etc.... sont les moyennes journalières obtenues pour un dosage, on porte sur un gra-

INTERPRETATION DU GRAPHIQUE DE LEVEY-JENNINGS



N.B. Le sérum de référence ne contrôle rien au sens strict de « contrôler » : C'est un système de surveillance, une indication qui met les problèmes en évidence ; le dosage d'un sérum de référence n'a aucune valeur en tant que tel : il demande à être interprété.

phique à partir d'un axe zéro les valeurs $S_1, S_2, \text{etc.}$ obtenues par le calcul suivant :

$$S_1 = x_1 - k \quad \text{où } k \text{ est la moyenne du dosage.}$$

$$S_2 = x_1 - k + x_2 - k = S_1 + x_2 - k, \text{ etc.}$$

Exemple :

Pour le potassium, $k = 4,40 \text{ mEq/l}$

$$X_1 = 4,23 \quad S_1 = 4,23 - 4,40 = -0,17$$

$$X_2 = 4,33 \quad S_2 = -0,17 + 4,33 - 4,40 = -0,24$$

Les valeurs négatives ou positives de S_1 et S_2 sont reportées sur un graphique. Le calcul quotidien du cusum permet une appréciation chiffrée des erreurs systématiques.

Le cusum permet de déduire de la valeur journalière une valeur cible. Son graphique matérialise par des angles nets les problèmes survenant en cours de dosage et force l'attention du manipulateur. Il faut chercher les causes d'erreurs avant que la situation hors contrôle ne soit évidente. Les décrochages sont nettement plus visibles sur le cusum que sur le graphique \bar{X} classique (voir graphiques page suivante).

III - AUTRES METHODES STATISTIQUES

1 - La "méthode des échantillons cliniques" - La moyenne de chaque série successive de 50 échantillons de sérums quelconques de patients est calculée et reportée sur une carte de contrôle établie à partir de la moyenne et des limites ($\pm 2 \sigma$) obtenue sur les 500 premiers échantillons.

2 - La méthode de "la moyenne des valeurs normales" (Average of normals : A.O.N.) : Elle consiste à faire la moyenne des valeurs des sujets examinés qui tombent dans la zone normale et à porter la moyenne obtenue sur une carte de contrôle.

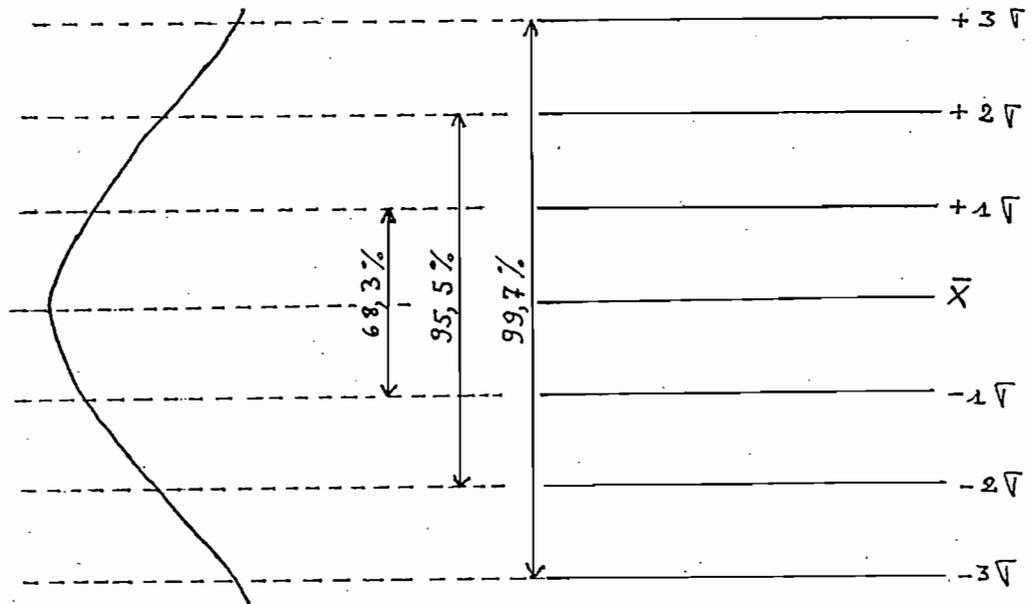


Figure N° 2

Graphique \bar{X} (ou de Levey-Jennings)

Le graphique représente la section de courbe de Gauss comprise entre plus et moins trois écarts-types :

\bar{X} = moyenne - σ = écart-type

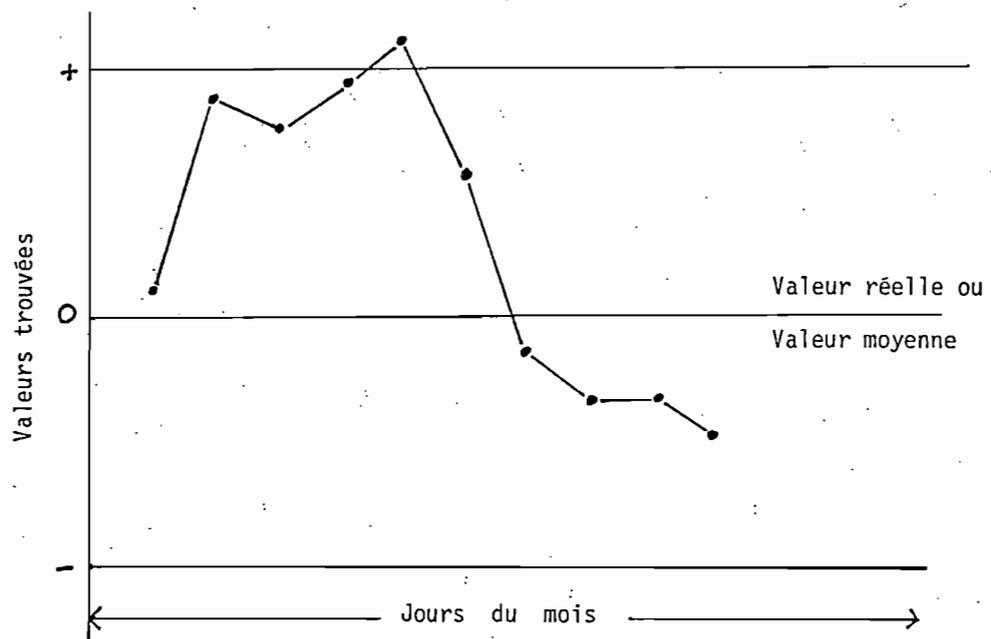


Figure N° 3 - Graphique du cùsum

Empiriquement, le système est hors contrôle lorsque six valeurs successives s'éloignent de la ligne médiane.

3 - La méthode du nombre plus (Hoffmann et Waid, 1955) : elle est fondée sur le fait que, dans un examen déterminé, la population des résultats supérieurs au mode (valeur de l'observation dont la fréquence est maximale) est constante.

Exemple : Supposons que l'on ait établi une carte de contrôle pour le glucose, que le mode se situe à 1 g/l et que 60% des résultats soient supérieurs à ce mode. Pour chaque série de 50 dosages consécutifs, on peut compter le nombre, en les marquant d'un signe +, de dosages qui ont une valeur de 1 g/l ou plus et porter ce nombre plus sur une carte de contrôle.

Les limites de confiance de ce nombre plus peuvent être calculées par les formules :

. "nombre plus" attendu = np où n = nombre de dosages
et p = proportion du dosage +

. limites de confiance = $np \pm 2\sqrt{npq}$ où q est le complément du "nombre plus"
($q = 1 - p$)

En définitive, l'établissement des cartes de contrôle des sérums témoins et le calcul journalier du "cusum" sont très satisfaisants.

IV - "CARTES DE CONTROLE" ET CONTROLE INTERLABORATOIRES

L'utilisation des "cartes de contrôle" et d'autres critères statistiques a permis des comparaisons interlaboratoires. Ces comparaisons permettent de classer les laboratoires en fonction du coefficient de variation. Les performances des laboratoires, fondées sur la détermination de la déviation standard, ne sont comparables que si elles sont établies à partir de méthodes identiques.

Une étude de surveillance de laboratoires montre que l'erreur systématique qui donne des résultats trop hauts ou trop bas prévaut sur l'erreur due au hasard (Skendzel et Youden, 1969).

Ces enquêtes interlaboratoires ont été faites généralement sur une très grande échelle. Le rapport de Gilbert publié en 1969 a été effectué sur 140.730 analyses et portait sur 12 types d'analyses.

Le contrôle interlaboratoires peut être régional, national ou international.

1 - Exemple de contrôle régional

Pastor et Paulli distribuent des sérums de contrôle (x) d'un lot bien défini à chaque laboratoire de la région du Sud-Est de la France. Les laboratoires en font le contrôle tous les jours pendant un mois et leur renvoient les différents résultats obtenus. Ces derniers sont traités par l'informatique et chaque laboratoire reçoit des documents lui précisant la moyenne de ses résultats, l'écart-type, le coefficient de variation pour chaque paramètre dosé.

Les résultats du contrôle de qualité permettent une comparaison des techniques entre elles. Le biologiste peut en déduire de lui-même quelles sont les techniques à abandonner et éventuellement quelles sont les techniques les plus performantes.

Les documents obtenus comportent :

- . Un relevé global par laboratoire avec transcription de tous les résultats du mois, la valeur moyenne, l'écart-type et le coefficient de variation. A la fin du mois, le biologiste peut donc construire sa carte de contrôle avec limites $\bar{X} \pm 2\sigma$;
- . une série d'histogrammes (un par paramètre mis sous contrôle). Sur cet histogramme, la position du laboratoire est représentée par xxxx à la partie inférieure. De plus, deux lignes verti-

cales objectivent les limites : moyenne générale (toutes techniques confondues) $\pm 2 \sigma$ (écart-type global). L'utilisateur trouve en outre sur ces histogrammes les moyennes, écarts-types et coefficients de variation par groupe de techniques ainsi que le nombre de laboratoires utilisant cette technique. Il peut ainsi se situer par rapport aux laboratoires qui font appel au même groupe de techniques que lui (figure 4).

2 - Exemple de contrôle national

La S.F.B.C. (Société Française de Biologie Clinique) envoie tous les deux mois à tous les laboratoires de France un ou deux flacons de sérums de contrôle contenant un certain nombre de paramètres déterminés. C'est un contrôle obligatoire organisé sous l'égide du Laboratoire National de la Santé.

Chaque dosage est déterminé par des codes précisant :

- . unités
- . méthode utilisée
- . technique
- . appareil
- . étalon

La Société traite les résultats obtenus par les différents laboratoires. Les réponses sont anonymes, chaque laboratoire étant codé par un numéro de poste. Les résultats d'un laboratoire sont comparés aux moyennes générales (toutes techniques), puis aux moyennes spécifiques (par technique ou appareil). Le laboratoire est alors comparé aux autres laboratoires adoptant la même méthode que lui. Pour toutes les substances dosées, la valeur du rapport "résultat obtenu" en pourcentage est aussi donnée pour chaque laboratoire. ^{moyenne}

Le Tableau n° 1 est un exemple de carte de contrôle de la S.F.B.C.

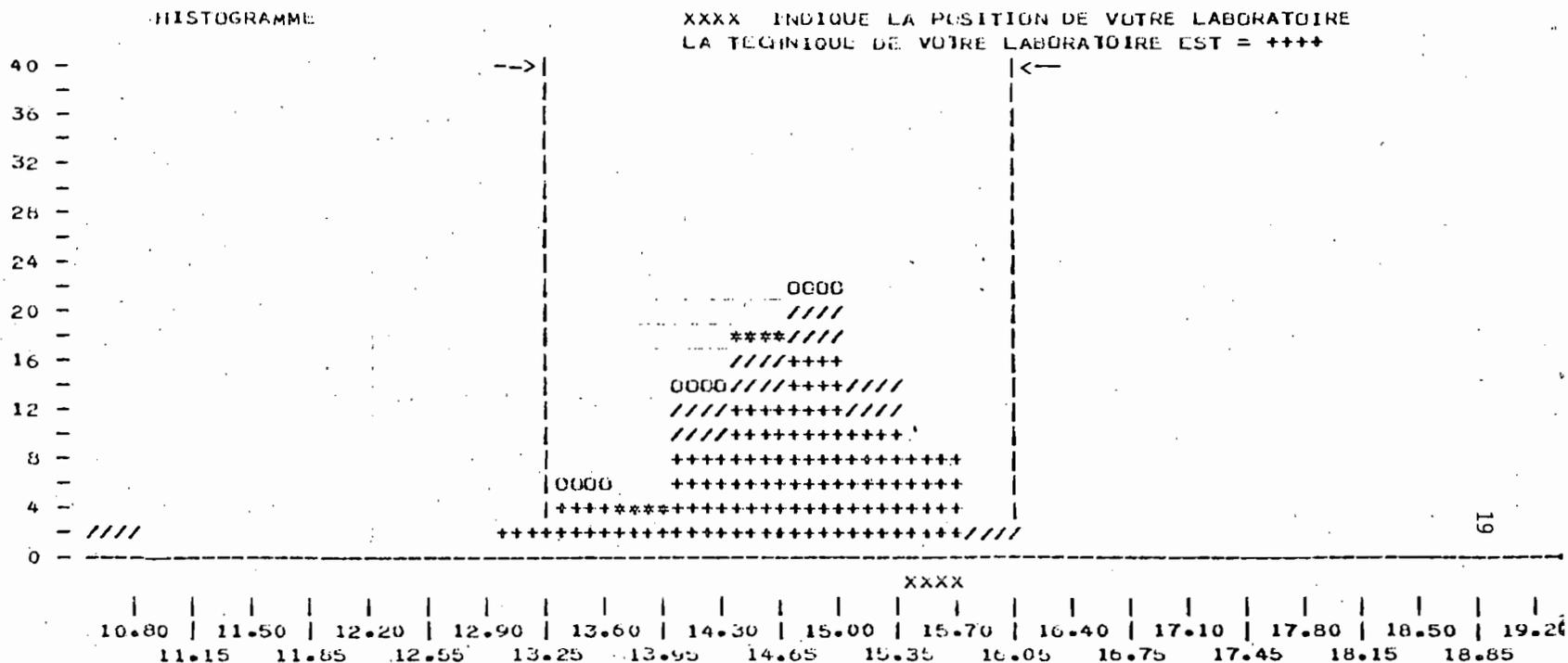
Histogramme (Pastor) : urée en millimole/l.

Laboratoire n° 335

Septembre 1981

Figure n° 4

	A V A N T E C R E T A G E		A P R E S E C R E T A G E			
	POUR CE LABO	POUR L'ENSEMBLE DES LABOS		DIALTYL MONOXIML ++++	UREASE VIT REACT ////	UREASE ET PHOTOM ****
NB LABOS	1	87	86	60	19	4
NB VALEURS	23	1801	1744	1200	384	77
MOYENNE	15.435	14.545	14.608	14.666	14.654	14.283
ECART-TYPE	0.251	0.885	0.682	0.640	0.667	0.514
CX	1.624	6.087	4.669	4.362	4.554	3.597



CN - 1081

Collez votre code du
LABORATOIRE

Organisé sous l'égide du
Laboratoire National de la Santé
25 Bd St. Jacques - 75014 Paris



	Urine	Anal.	Unit.	Techn.	Appareil	Etalon	Résultat		
CALCIUM	U A	C A	E X	V S	B B K	X X	0 2 , 3 8	0,025 x	
	U B	C A	E X	V S	B B K	X X	0 2 , 8 8	mmol/l	mg/l
CREATININE	U A	C F	E X	Z A	B B K	X X	0 8 , 1 4	8,84 x	
	U B	C F	E X	Z A	B B K	X X	0 6 , 4 9	mmol/l	g/l
GLUCOSE	U A	G E	E X	J F	9 V X	X X	1 4 - 0 0	5,55 x	
	U B	G E	E X	J F	9 V X	X X	0 2 , 1 0	mmol/l	g/l
PHOSPHATE	U A	P E	E X	B S	B B K	X X	1 1 , 2 0	0,032 x	
	U B	P E	E X	B S	B B K	X X	1 2 , 5 0	mmol/l	mg/l
POTASSIUM	U A	P G	E X	D C	B B K	X X	0 2 9 , 0		
	U B	P G	E X			X X	0 3 0 , 0	mmol/l = mEq/l	

le 27/10/81

N.B. La solution de calibration pour le SMA II est l'"Urine - Chimie BIOTROL".

Tableau n° 1 : Exemple de carte de contrôle de la SFBC.

3 - Exemple de contrôle international

Le "Wellcome Clinical Chemistry Quality Control Programme", organisme international, envoie un sérum de contrôle ponctuel non titré (deux échantillons à doser par mois, à raison d'un dosage tous les 15 jours) à tous les laboratoires adhérant au programme de contrôle. Il reçoit et traite les résultats obtenus par les laboratoires qui, en retour, reçoivent un rapport avec des histogrammes (un pour chaque paramètre) objectivant les limites : moyenne générale $\pm 2 \sigma$ (toutes techniques confondues) et la position du laboratoire. Ces histogrammes fournissent à l'utilisateur tous les renseignements qui lui permettent de se situer par rapport aux autres laboratoires faisant appel aux mêmes techniques que lui.

Au cours de ces enquêtes, on peut effectuer et éventuellement établir un classement des différentes méthodes utilisées pour le dosage d'un même constituant. Par exemple, le glucose est dosé par les méthodes au ferricyanure, ortho-toluidine, Somogyi, glucose-oxydase, phényl-méthyl-salicylate (Gilbert, 1970).

On peut donc comparer ces méthodes (chapitre IV).

V - CONTROLE STATISTIQUE DE LA QUALITE DES EXAMENS DE LABORATOIRE

L'utilité d'un contrôle de qualité a été mise en lumière par les expériences interlaboratoires décelant des écarts importants entre les résultats fournis par les laboratoires en présence. Seul un contrôle structuré, reposant sur des bases statistiques rigoureuses, peut permettre au biologiste de répondre à un double impératif : précision et exactitude des résultats rendus.

1 - Qualités d'un système de contrôle

- Le système de contrôle convenablement établi doit permettre de déceler rapidement les erreurs systématiques (contrôle d'exactitude) ou aléatoires (contrôle de précision) qui pourraient fausser une série de mesures.

- Le contrôle de qualité doit s'effectuer sur toute l'étendue des valeurs rencontrées ; en effet, les résultats trouvés peuvent être acceptables dans la zone "normale" et mauvais dans la zone "pathologique".
- Tout système de contrôle doit être applicable aux analyses automatiques ; dans le cas d'appareils en flux continu, il est intéressant de pouvoir détecter et corriger une dérive, de pouvoir chiffrer la contamination d'un échantillon à l'autre.
- Enfin, le point de vue rentabilité est à prendre en considération, la dépense journalière de temps et d'argent doit rester dans des limites raisonnables.

Il est impossible d'utiliser un système capable de répondre à toutes les exigences précitées. Par ailleurs, il n'existe pas de modèle standard de contrôle : celui-ci doit être choisi en fonction du type de méthode (manuelle ou automatique), du nombre journalier d'analyses de même espèce, du type d'appareillage utilisé, de l'exigence du calculateur ou de l'ordinateur permettant des tests statistiques élaborés.

2 - Contrôle de qualité basé sur des échantillons de contrôle

2.1. Buts recherchés

Le système de contrôle a pour but de mettre en évidence les erreurs systématiques et aléatoires.

- A l'erreur systématique (d) se rattache la notion d'exactitude. Les valeurs trouvées (X), comparées à celles données par un échantillon de titre connu (μ) sont systématiquement excédentaires ou déficitaires ($\mu - X = d$).

→ L'erreur aléatoire est l'expression du manque de précision de la méthode : le dosage du même échantillon, répété à intervalles réguliers, fournit des résultats dont la dispersion reflète l'imprécision. Il faut noter qu'une méthode peut être précise sans être exacte (la valeur moyenne \bar{X} est différente de la valeur vraie μ).

La Figure n° 5, empruntée à Buttner (1968), illustre les deux types d'erreur :

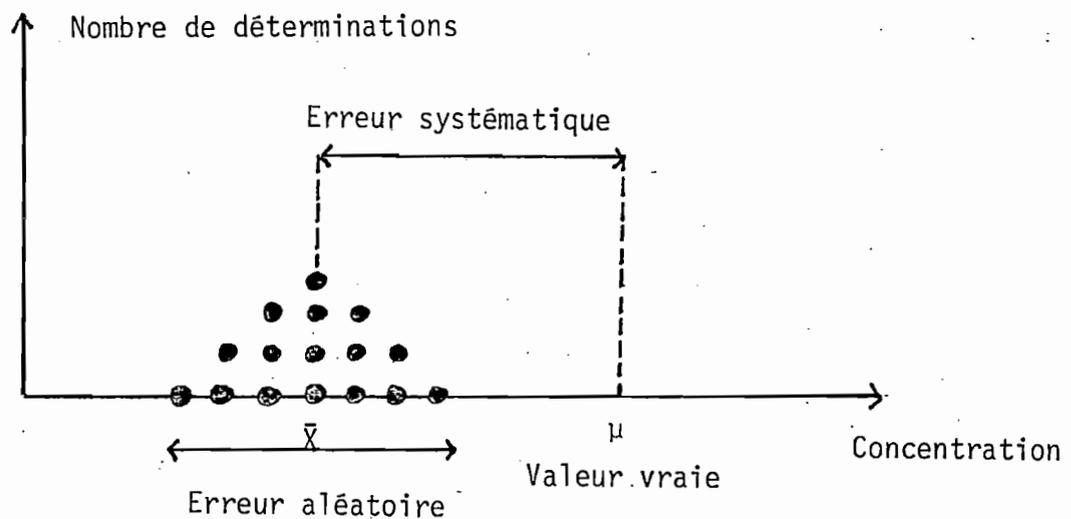


Figure N° 5

Les erreurs en chimie clinique

2.2. Nature des échantillons de contrôle

Dans la mesure du possible, on s'adresse à une solution dont la concentration est proche de celle de l'échantillon à contrôler. Pour des examens de laboratoires pratiqués sur le sang, la présence de protéines mérite une certaine attention. Celles-ci, en effet, peuvent être la cause d'interférences dans le dosage des autres éléments ; il est admis, par ailleurs, qu'à concentration égale, les solutions pures d'un constituant présentent une bien meilleure reproductibilité que les mêmes solutions additionnées de protéines. Pour ces deux raisons, il semble préférable d'utiliser des échantillons de contrôle contenant des protéines.

- Pour tester la précision, on peut avoir recours soit à un pool de sérums réalisé dans le laboratoire (Berry, 1968) et conservé par congélation ou lyophilisation, soit à un sérum commercialisé non titré.
- Seul un sérum de titre connu permet de contrôler l'exactitude; ici les pools de sérums ne sont pas utilisables. Une solution aqueuse de concentration connue par pesée précise peut être valable. Cependant, en particulier lorsque l'échantillon et l'étalon doivent être soumis à une dialyse, l'un et l'autre doivent renfermer les mêmes protéines.

2.3. Les cartes de contrôle à valeurs moyennes

2.3.1. Phase préliminaire

La technique sur laquelle on veut établir un contrôle doit avoir préalablement fait ses preuves (précision dans la série, spécificité). Les conditions opératoires doivent être les mêmes tout au long de la phase d'établissement de la carte de contrôle : pipettes, lots de réactifs, etc.

Sur un pool de sérum commercial ou non, on pratique une ou mieux deux déterminations par jour pendant un minimum de

20 jours (pour certains auteurs 30 ou 31 jours). Le sérum ne doit faire l'objet d'aucun traitement spécial de la part du technicien; dans le cas de double détermination, les deux dosages ne doivent pas être consécutifs.

2.3.2. Utilisation et interprétation

Le pool de sérum ayant servi au cours de la phase préliminaire est dosé régulièrement tous les jours et la valeur trouvée reportée sur la carte de contrôle. L'erreur est tolérable si le point reste à l'intérieur de la zone d'alarme, les erreurs les plus faibles étant statistiquement les plus fréquentes ; les valeurs individuelles devront se trouver réparties de part et d'autre de l'axe représentant la valeur moyenne \bar{X} de l'ensemble des dosages.

Une technique est déclarée "hors contrôle" si :

- Une seule valeur individuelle sort du seuil d'action ;
- sept valeurs successives se situent d'un même côté de l'axe (erreur systématique) ;
- sept valeurs consécutives sont régulièrement croissantes ou décroissantes, objectivant ainsi une "tendance" à la déviation, bien que restant à l'intérieur des limites $\bar{X} \pm 3\sigma$.

La Figure n° 6 donne un exemple de carte à valeurs moyennes avec deux périodes : l'une sous contrôle, la deuxième "hors contrôle".

3 - Conclusion

Les méthodes statistiques exploitant les résultats eux-mêmes ne constituent pas à elles seules un contrôle de qualité des examens; elles sont un complément très valable des cartes de contrôle de précision et d'exactitude. Il est conseillé, à cet égard, de comparer l'écart-type mensuel des moyennes journalières à l'écart-type mensuel de l'échantillon de contrôle. Alors que la manipulation des cartes de contrôle

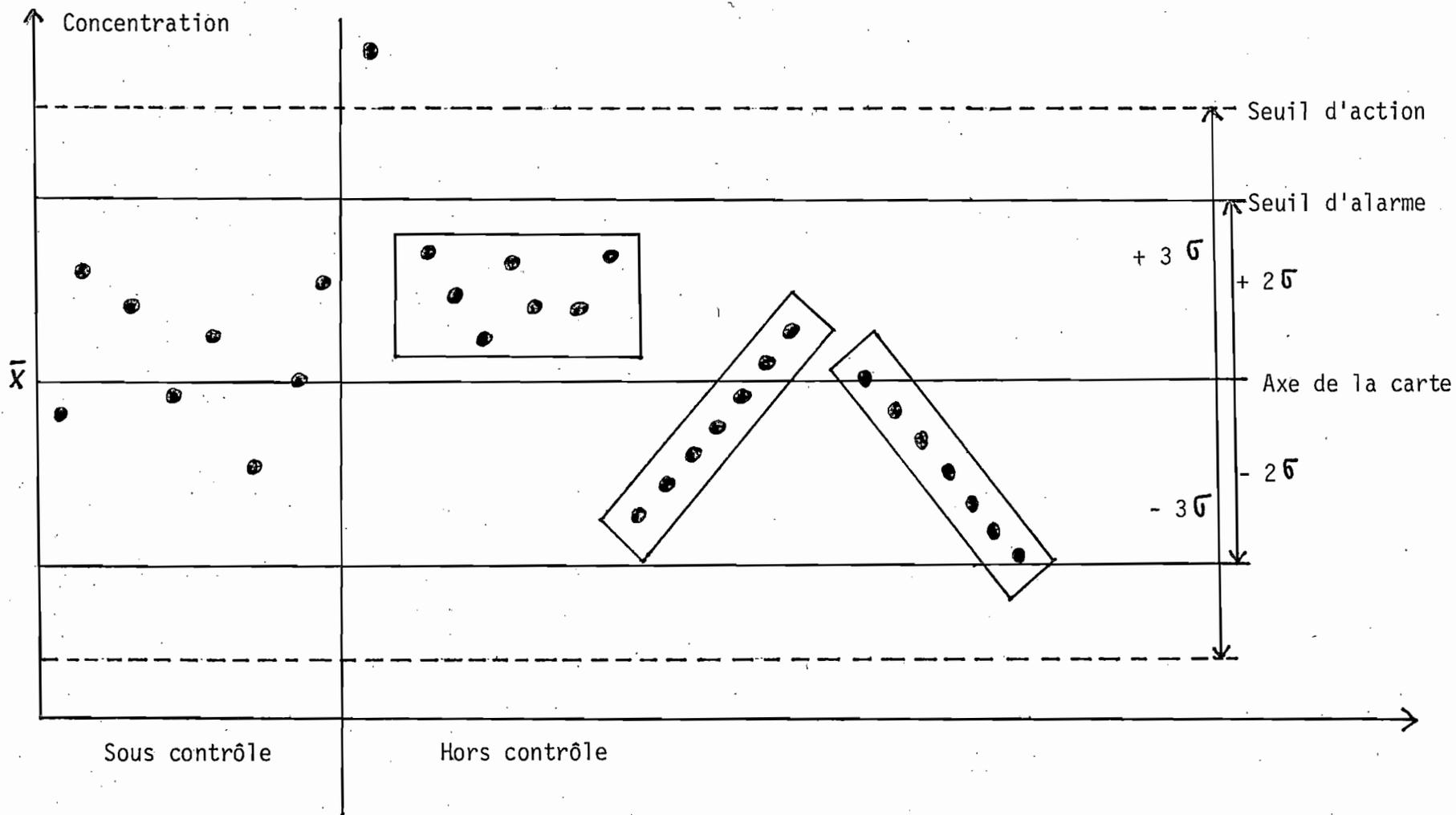


Figure N° 6 - Carte de contrôle à valeur moyenne

classique est du ressort du technicien, les calculs statistiques à long terme permettent au directeur de laboratoire de surveiller efficacement la qualité de son personnel et de ses résultats.

CHAPITRE IV

COMPARAISON DES METHODES

L'un des buts des contrôles de qualité est de discriminer, parmi les nombreuses techniques utilisées pour doser un paramètre, celles qui conduisent aux résultats les plus exacts et les plus reproductibles. S'il est possible d'apporter une ébauche de conclusion au problème de la précision, il est par contre très difficile, pour ne pas dire impossible, de résoudre celui de l'exactitude.

1 - L'erreur expérimentale

Il y a plusieurs façons d'exprimer l'erreur expérimentale (Copeland, 1971). Pour introduire (ou maintenir) une méthode, il faut prendre en considération plusieurs facteurs, notamment la valeur de la déviation standard.

Marymont, Lawley et Hoffman (1968) comparent quatre méthodes de dosage des lactico-déshydrogénases : trois fondées sur le principe de l'oxydation du lactate en pyruvate, l'autre sur le principe de la réduction du pyruvate en lactate.

La dernière méthode donne la plus grande dispersion et la moins bonne corrélation avec la clinique : sa validité, selon ces auteurs, est donc nulle. De telles études sont intéressantes, certes, mais les données publiées ne doivent être acceptées qu'après une étude "locale".

La confrontation avec la clinique est une considération qu'il ne faut pas perdre de vue pour le choix d'une méthode. L'étude de quatre méthodes de dosage de la créatine phosphokinase par Crowley et Alton (1970) montre que :

- La méthode spectrophotométrique est la plus précise dans la zone la plus importante pour l'application clinique, c'est-à-dire la zone des sérums normaux ou modérément élevés. Elle est très sensible, facile (mais exige un spectro-photomètre) ;
- les trois méthodes colorimétriques sont plus adaptées aux analyses en grand nombre ; elles sont moins sensibles et moins précises pour les valeurs normales et celles modérément élevées.

2 - Validation du choix d'une méthode

Elle doit tenir compte de la confrontation avec la clinique. Le biologiste tend à réaliser un progrès sur le plan de l'exactitude et de la précision dont le but vise surtout à définir avec certitude les états "infra-pathologiques" ou les états "supra-normaux". Chung, Sinha et Trew (1971) ont déterminé l'activité amylasique du sérum et de l'urine avec une méthode classique (procédé amyloclastique) et avec un procédé nouveau fondé sur un substrat chromogénique (Réactone-Red 2 β - amylopectine). Dans cette étude, 88% des résultats tombent dans la zone normale avec la méthode du substrat chromogénique et 94% dans la zone normale avec le procédé amyloclastique. Or, toutes les valeurs élevées qui ont pu être décélées par le nouveau procédé correspondent à des sujets chez lesquels les conditions cliniques ont des implications pancréatiques.

En définitive, il est donc très important de retenir cette méthode à cause de la confrontation clinique.

3 - Etude de la méthode dans les conditions pathologiques de son utilisation

La méthode, enfin, doit être étudiée également dans les conditions pathologiques de son utilisation. Il faut tenir compte non seulement de la déviation standard définie dans toute la gamme des valeurs

basses, moyennes ou élevées du constituant, mais aussi de l'interférence des constituants sériques pouvant exister simultanément à des taux pathologiques. Powell et Djuh (1971) ont effectué le dosage de la glycémie par quatre méthodes automatisées (à la glucose-oxydase, au ferricyanure, à l'ortho-toluidine et à la réduction du cuivre-néocuproïne) chez des sujets urémiques, avant et après dialyse rénale. Seule la méthode à la glucose-oxydase donne des résultats valables: les composants pathologiques du sérum des sujets urémiques ne produisent pas d'interférence appréciable avec la glucose-oxydase, le recouvrement du glucose dans le sérum urémique étant de 99,9%. La méthode à la glucose-oxydase est donc la méthode de choix pour les sujets urémiques.

La conclusion de ces observations est que le contact entre cliniciens et biologistes est absolument indispensable. Il est navrant pour le biologiste de n'avoir très souvent qu'à interpréter une fiche de résultats, sans qu'on lui ait donné le moindre renseignement sur l'état clinique du malade ou sur la thérapeutique appliquée. Bien des erreurs seraient évitées si ce contact était établi et c'est le clinicien qui doit commencer le dialogue.

4 - Rôle du biologiste dans l'établissement du contrôle de qualité de sa méthodologie

Il est du ressort exclusif du biologiste, d'établir le contrôle de qualité de sa méthodologie. Ceci implique une étude locale de la méthode, même si des études sérieuses antérieures ont été faites. Ainsi, les valeurs normales de la méthode choisie dans les conditions habituelles de fonctionnement du laboratoire sont déterminées.

Nous affirmons avec force, en ce qui concerne le contrôle de qualité de la méthodologie, qu'il est très souvent désagréable de rencontrer des difficultés dans l'application ou l'introduction d'une méthode ou variante de méthode nouvelle car la description technique est incorrecte, insuffisante, voire même imprécise. Henry, Beeler et Copeland (1969) ont donné une description type que nous ne saurions

trop recommander comme modèle.

Il faut insister aussi sur l'utilisation d'une nomenclature internationale comme celle rassemblée par Dybkaer (1969).

Par exemple :

→	10^{-3}	:	milli	m
→	10^{-6}	:	micro	μ
→	10^{-9}	:	nano	n
→	10^{-12}	:	pico	p
→	mole/l	:	mol/l	: d'où l'on peut déduire m mol/l, μ mol/l, n mol/l p mol/l.

En enzymologie, l'expression de base est en unités/litre, soit U/l, d'où l'on peut déduire :

$$\rightarrow k \text{ U/l (et non } \mu\text{U/ml)} : \frac{\text{U}}{\text{ml}} = \frac{\text{U}}{10^{-3}\text{l}} = \frac{\text{U} \cdot 10^3}{1} = \frac{\text{kU}}{1} \quad (k = 1000)$$

$$\rightarrow \text{U/l (et non mU/ml)} : \frac{\text{mU}}{\text{ml}} = \frac{10^{-3}\text{U}}{10^{-3}\text{l}} = \frac{\text{U}}{1}$$

$$\rightarrow \text{mU/l (et non } \mu\text{U/ml)} : \frac{\mu\text{U}}{\text{ml}} = \frac{10^{-6}\text{U}}{10^{-3}\text{l}} = \frac{10^{-3}\text{U}}{1} = \frac{\text{mU}}{1}$$

$$\rightarrow \mu\text{U/l (et non nU/ml)} : \frac{\text{pU}}{\text{ml}} = \frac{10^{-9}\text{U}}{10^{-3}\text{l}} = \frac{10^{-6}\text{U}}{1} = \frac{\mu\text{U}}{1}$$

Pour le temps, l'unité fondamentale est la seconde (S). On peut écrire min et non min. ou m., on peut utiliser la milliseconde (ms).

5. - Définition des valeurs normales

Nous voudrions insister sur plusieurs points précis en ce qui concerne la détermination des valeurs normales.

- a) - Dans un premier temps, nous reprenons la conclusion de cet article qui dit que "chaque laboratoire doit établir mensuellement sa déviation standard méthodologique et communiquer ce renseignement fondamental au clinicien en même temps que le résultat de chaque analyse demandée". Cette déviation standard est variable d'un laboratoire à l'autre, mais également variable au sein du même laboratoire.
- b) - Les limites de la normale n'ont de sens que dans le laboratoire qui les a établies. Dans un même laboratoire, elles peuvent d'ailleurs changer non seulement par la suite de modifications de techniques, mais également en fonction d'une multitude de paramètres, dont le moindre n'est pas la qualité variable du manipulateur. On sait aussi que les limites de la normale sont liées à beaucoup d'éléments classiques (âge du patient, sexe, variations saisonnières, etc.). La détermination des valeurs normales doit également tenir compte de l'état, des conditions d'hospitalisation du patient. Ce fait est bien connu pour des substances comme l'urée et les triglycérides.
- c) - Il est très important de signaler que la détermination des valeurs normales a grandement bénéficié des expériences de "screening" qui permettent de les calculer à partir d'un nombre très grand d'échantillons. O'Kell et Elliott (1970) ont fait une enquête récente de ce genre. Elle a permis de préciser les valeurs normales du cholestérol, du calcium, du phosphore, du glucose, de la sérumalbumine, de la bilirubine, des phosphatases alcalines, des lactico-déshydrogénases, des transaminases, obtenues sur un SMA 12/60, en fonction de l'âge, du sexe et de l'état de grossesse. La déviation standard est calculée à partir d'un certain nombre d'analyses individuelles. Elle est affectée de trois façons. Le coef-

de variation intra-individuelle est inférieur à 2% pour le sodium, le chlore, le calcium, le magnésium, de 3 à 4% pour le dioxyde de carbone, la sérumalbumine et les protéines, de 5 à 7% pour le potassium, le glucose et le cholestérol. Les variations inter-individuelles sont plus importantes que les intra-individuelles pour la plupart des dosages. La déviation analytique est aussi importante ou plus importante que les variations biologiques (intra ou inter-individuelles) pour les constituants qui, comme le calcium, sont soumis à un contrôle homéostatique très précis.

CHAPITRE V

POSSIBILITES D'AMELIORATION DU CONTROLE DE QUALITE

Etant donné que nous venons de démontrer l'utilité des contrôles de qualité interlaboratoires associés à un contrôle interlaboratoire, nous voudrions aborder ici l'étude des possibilités d'amélioration des contrôles interlaboratoires. Cette étude peut évidemment être envisagée uniquement si elle ne crée pas pour l'utilisateur un surcroît important de travail ou de consommation de réactifs. On pourra, à l'inverse, faire un appel plus grand à l'informatique.

Les améliorations doivent être recherchées dans trois directions :

- . Une vérification plus objective de la linéarité des méthodes ;
- . la comparaison des techniques entre elles, comparaison qui devrait amener progressivement le biologiste à abandonner des techniques peu précises ou peu exactes au profit de techniques d'un rendement meilleur. Nous pensons en effet qu'une standardisation sera d'autant mieux acceptée qu'elle sera plus librement consentie et choisie ;
- . Enfin, il faudrait que l'amélioration porte aussi sur une simplification du travail accompli par les organisateurs du contrôle.

Nous pensons, pour répondre à ces trois objectifs, que les deux derniers peuvent être obtenus par l'écrêtage et que la linéarité peut être objectivée par la construction des diagrammes de Youden modifiés par Tonks (1963).

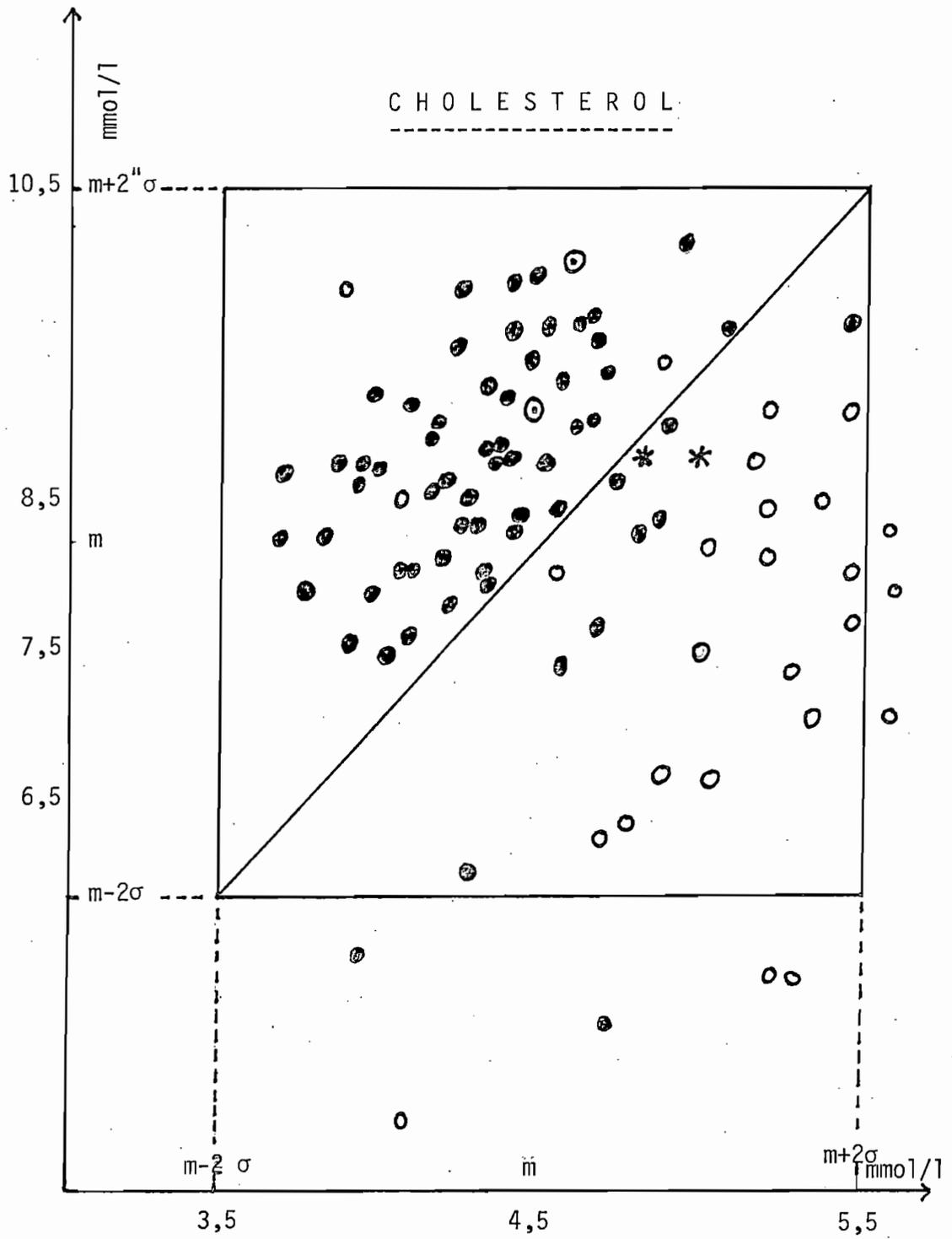
1 - Contrôle plus poussé : Youden selon Irisson C.

Sans vouloir pousser à outrance le contrôle de qualité, il nous paraît opportun de présenter la méthode classique du diagramme de Youden, ultérieurement modifié par Tonks. Cette méthode permet de vérifier la linéarité des réponses entre des résultats à taux faible et des résultats à taux élevé. Il est possible en effet, qu'à la vue de ses résultats de contrôle de qualité, le biologiste juge que sa méthode est défectueuse. Son intervention tendra naturellement à rapprocher son résultat du résultat moyen obtenu par les laboratoires utilisant la même technique. Mais, sans l'utilisation de ce type de diagramme, dans certains cas, cette intervention ponctuelle au voisinage de la valeur-cible (valeur obtenue par le calcul, à partir des réponses fournies par un nombre suffisant de laboratoires différents travaillant sans liaison les uns avec les autres) ne permettra pas de maîtriser la linéarité de la réponse. Si, par contre, on procède, dans la même période de temps, à l'analyse de deux sérums, l'un à taux faible, l'autre à taux élevé, et si on trace le diagramme de Tonks en portant en abscisses les valeurs du taux bas et en ordonnées les valeurs du taux élevé, les points représentatifs des différents laboratoires doivent se situer à l'intérieur d'un carré ou d'un rectangle selon que l'on a choisi les mêmes unités ou des unités différentes en abscisses et en ordonnées. Un laboratoire peut donc juger en fonction de sa position si sa linéarité est bonne ou mauvaise.

Pastor et Paulli ont dressé de tels diagrammes pour tous les paramètres à doser. La figure n° 7 représente le diagramme de Tonks pour le cholestérol. Ces auteurs ont choisi, pour dresser le diagramme, un contrôle ponctuel à taux élevé et faible et pris, pour chaque laboratoire, la valeur obtenue à ce contrôle ponctuel et la valeur obtenue durant la même période en contrôle journalier.

On constate, sur le diagramme du cholestérol, que huit laboratoires se trouvent en dehors des limites requises (deux techniques enzymatiques et six méthodes du type Liebermann).

Il est intéressant de remarquer aussi, dans la répartition, le clivage entre les deux groupes de méthodes : méthode enzymatique au



- Techniques enzymatiques
- * Méthodes utilisant un sel de fer
- Méthodes du type Liebermann
- ⊙ Procédés divers

FIGURE N° 7

Diagramme de Tonks

dessus de la diagonale et méthode du type de Lieberman en dessous.

Une telle étude permet de constater (pour chaque paramètre) que quelques laboratoires sont au-delà du seuil d'alarme, quelques-uns d'entre eux par manque de linéarité. Les diagrammes de Tonks peuvent donc leur rendre service en leur permettant assez facilement de se situer.

2 - Possibilité d'écrêtage

L'écrêtage est la suppression des résultats situés en-deça de $\bar{X} - 2\sigma$ et au-delà de $\bar{X} + 2\sigma$. Afin de procéder à la comparaison interlaboratoire la plus exacte possible, les associations pour le contrôle de qualité entreprennent, pour chaque paramètre, des calculs statistiques sans écrêtage et après un ou deux écrêtages. Elles cherchent ainsi combien de laboratoires sont éliminés chaque fois à l'occasion d'un ou de deux écrêtages. Il a été constaté en effet que l'écrêtage influe peu sur la valeur moyenne, mais, par contre, qu'il joue grandement sur l'écart-type et le coefficient de dispersion.

CHAPITRE VI

CONCLUSION

Le contrôle de qualité est absolument indispensable. Les modalités sont peut-être différentes, suivant que l'on s'adresse aux méthodes automatiques et aux méthodes manuelles. Mais les principes généraux sont les mêmes. En définitive, la mise en application de ce contrôle est relativement simple, si l'on s'en tient aux cartes de contrôle et à la détermination des moyennes et déviations standards méthodologiques, soit à partir de pools de sérums, soit à partir de sérums de contrôle.

Ce contrôle intralaboratoire ou éventuellement interlaboratoires, sur une échelle plus ou moins grande, peut aller jusqu'au contrôle national ou international. Sa nécessité est évidente.

Abraham Lincoln disait dans une phrase célèbre :

" On peut tromper une partie du peuple tout le temps,

" On peut tromper tout le monde une partie du temps,

" On ne peut tromper tout le monde tout le temps".

Adaptons cette phrase à nos préoccupations. Nous devons donc dire qu'en fonction des moyens actuels dont nous disposons sur le plan de la technicité, de la technologie et de la compétence, nous pouvons assurer la "qualité du service" en essayant de :

" Renseigner exactement tout le monde tout le temps".

La deuxième partie de notre travail portera sur les sérums de contrôle.

II ème PARTIE

SERUMS DE CONTROLE

CHAPITRE I

GENERALITES SUR LES SERUMS DE CONTROLE

Pour contrôler la valeur des résultats de biochimie clinique, plusieurs méthodes ont été préconisées. Récemment, Amador (1968) a montré la supériorité de la méthode dite de l'échantillon connu sur celle préconisée par Hoffmann et Waid (1955) qui se réfère aux moyennes des valeurs normales quotidiennes. En effet, l'introduction de sérums de concentrations connues a permis une meilleure détection des erreurs.

La faveur des biologistes va aux sérums de contrôle fabriqués à l'échelle industrielle et ceci, sans doute pour des raisons de rapidité et de commodité, bien qu'il soit, en théorie du moins, relativement simple de préparer à l'échelle du laboratoire cet échantillon connu sous forme de sérums congelés.

1 - Définition d'un sérum de contrôle

Pour KLUGERMAN et BOUTWELL (1961), les sérums de contrôle simulent la composition chimique et les caractéristiques physiques de l'échantillon à analyser. Ces sérums subissent ainsi tous les temps opératoires d'une technique (précipitation et extraction par exemple) et sont donc soumis aux mêmes erreurs fortuites et systématiques que les échantillons à doser.

Pour préciser cette notion, la définition suivante peut être adoptée :

" Un sérum de contrôle est une solution protéique dont la composition est analogue à celle d'un sérum humain normal ou patho-

logique. Introduit en tant qu'échantillon connu dans les séries quotidiennes d'analyses, il sert au contrôle de la valeur des résultats obtenus en biochimie clinique par les techniques manuelles ou automatiques".

2 - Classification des sérums de contrôle

Différents types de sérums de contrôle peuvent être distingués, selon les critères de classification. Ils sont rassemblés dans le tableau n° 2.

- . Les sérums spécifiques sont réservés au contrôle d'un groupe de constantes ayant une individualité, par exemple : les enzymes, les lipides, les paramètres de l'équilibre acido-basique.
- . Les sérums de contrôle dits "sans traitement préalable" correspondent à des pools de sérums ayant subi un minimum de modification. Ils sont la plupart du temps lyophilisés et se distinguent souvent ainsi des sérums qui ont subi un traitement préalable et correspondent aux sérums reconstitués se rencontrant généralement sous forme liquide.

3 - Techniques de préparation

La préparation de sérums de contrôle est réalisable, à l'échelle du laboratoire. Whitehead et Morris (1969) décrivent avec précision la technique de préparation de pools de sérums congelés à - 20°C à partir des surplus quotidiens des prélèvements. Sparapani et Berry (1944) ont, de plus, défini les moyens de faire varier les concentrations de ces pools soit par une déminéralisation à l'aide de résine, soit par une précipitation partielle des protéines, soit par une addition calculée de substances comme l'urée, le glucose, etc.

Ces procédés, ne pouvant tout de même s'adresser qu'à des laboratoires

CRITERES DE CLASSIFICATION	SERUMS DE CONTROLE
Nombre de constituants	Monovalents Polyvalents Spécifiques
Valeur des constituants	Normaux Pathologiques
Origine des sérums	Humains Animaux
Etat physique	Liquides Lyophilisés
Mode de préparation	Avec traitement préalable Sans traitement préalable

TABLEAU No 2

CLASSIFICATION DES SERUMS DE CONTROLE

de dimension importante, ont cédé le pas aux préparations de type industriel.

Là encore, la matière première est constituée par un pool de sérums ou éventuellement de plasmas qui peut être d'origine humaine ou animale (le plus souvent cheval ou boeuf). Le tableau N° 3 résume les étapes principales de fabrication :

- . Obtention d'un pool de sérums suivie ou non de la préparation d'une base protéique.
- . Ajustage à des concentrations déterminées.
- . Addition d'antiseptiques ou de stabilisants.
- . Filtration stérilisante.
- . Répartition suivie ou non d'une lyophilisation.
- . Détermination des concentrations.

TABLEAU N° 3

Schéma général de préparation des sérums de contrôle

Ce schéma n'est que très général, car certains stades revêtent une importance plus ou moins grande selon la catégorie de sérums de contrôle envisagée : exemple des sérums de contrôle sans traitement préalable et des sérums avec traitement préalable.

4 - Position des sérums de contrôle vis-à-vis des étalons utilisés en biochimie

Compte tenu des techniques de fabrication, les sérums de contrôle

apparaissant d'emblée différents des étalons qui se définissent de façon très stricte.

Radin (1967) définit l'étalon primaire biochimique comme une substance présente dans les liquides biologiques dont les critères de pureté se situent à l'intérieur de limites étroites, compatibles avec la mesure par pesée.

Le produit sera considéré comme pur lorsque toutes les techniques de fractionnement connues auront échoué. Sa qualité est définie par des spécifications physico-chimiques précises.

Le National Bureau of Standards propose une urée étalon à 99,7% de pureté et une créatinine à 99,8%.

Une quantité pesée mise en solution dans un solvant de composition définie constitue la solution étalon primaire.

La solution étalon secondaire est préparée en dissolvant, dans un solvant de composition définie, une substance dont la pureté n'entre pas dans les limites imposées pour l'étalon primaire. Cette solution est titrée par rapport à la solution étalon primaire.

En fonction de ces définitions, il paraît difficile d'assimiler les sérums de contrôle à des étalons, comme Bonnet et Pozet (1970) ont eu l'occasion de le préciser et ceci pour de multiples raisons :

- leur composition n'est jamais rigoureusement définie : c'est un point sur lequel insiste particulièrement Hanson (1970);
- le risque d'interférence des autres produits présents n'est pas négligeable ;
- il existe une valeur de la concentration différente pour chaque technique analytique.

Logan et Allen (1968) précisent que l'on n'utilisera les sérums de

contrôle comme étalons que lorsqu'il n'existera pas de substance suffisamment pure pour servir d'étalon.

Certains critères sont à exiger des sérums de contrôle :

- une bonne reproductibilité d'un échantillon à l'autre ;
- une stabilité excellente ;
- les concentrations annoncées devront être déterminées par des techniques éprouvées qui devront être précisées par le fabricant ; ces chiffres devront, bien entendu, approcher le plus possible de la valeur vraie ;
- enfin, la composition devra être voisine de celle des échantillons à doser, sans pour autant que l'on exige une identité absolue.

C'est en fonction de ces impératifs que le biologiste fera son choix dans les différentes catégories énoncées, chacune présentant des avantages et des inconvénients.

EXEMPLE :

Les sérums reconstitués à partir d'une base protéique conviennent mieux, par leur limpidité, aux techniques colorimétriques directes. Les pools de sérums lyophilisés ont l'inconvénient d'être troubles après réhydratation, mais ont l'avantage d'offrir un éventail plus large de constituants.

5 - Méthode de contrôle de la qualité d'un sérum de contrôle

Le contrôle de la qualité d'un sérum de contrôle ou de référence peut être envisagé de deux façons : soit par des méthodes uniquement automatiques, soit par des méthodes manuelles. On peut utiliser les unes et les autres.

Il convient de distinguer le coefficient de variation global de dosage d'un paramètre et le coefficient de variation propre de dosage d'un sérum de contrôle par une méthode déterminée, ce dernier devant

être nettement plus faible que le précédent.

Le coefficient de variation global est voisin de l'E.L.A., telle qu'elle a été définie par Tonks (1963).

$$\text{E.L.A.} = \frac{1/4 \text{ de la différence entre les valeurs extrêmes}}{m \text{ (moyenne des individus normaux)}} \times 100$$

$$\approx \pm \frac{100 \sigma}{m} = \pm \text{C.V.}$$

Une méthode de dosage ne pourra être retenue pour les besoins du laboratoire ou pour le contrôle qui nous préoccupe, que si le double de son coefficient de variation propre est inférieur à l'E.L.A. Un résultat est différent des valeurs annoncées par le fabricant si le pourcentage de différence est supérieur au coefficient de variation de la technique et si cette constatation est vérifiée par une deuxième technique de dosage. Un résultat est douteux si l'écart n'est constaté que par une méthode.

6 - Stabilité et conservation des sérums de contrôle

Les sérums de contrôle lyophilisés restent stables jusqu'à la date d'expiration indiquée, lorsqu'ils sont conservés entre + 2° et + 8°C. Après reconstitution, leur stabilité correspond à celle d'un sérum humain (environ 8h. à 2-8°C).

Les sérums régénérés peuvent être congelés, en parties aliquotes, à - 20°C ou au-dessous. Une partie aliquote décongelée, à température ambiante, ne doit plus être reconstituée.

Il est sans doute utile ici de rappeler les conclusions du travail de Hanok et Kuo (1968) qui étudièrent, sur des sérums Hyland de référence et de contrôle, les possibilités de conservation pendant 20 jours au réfrigérateur à + 10°C et au congélateur à - 15°C. Ces auteurs montrent que :

- . sodium, potassium et chlore : la conservation est correcte au réfrigérateur et au congélateur ;
- . bicarbonate : des variations sont importantes à partir du 8° jour lorsqu'on conserve au réfrigérateur ; les sérums congelés se conservent fort bien ;
- . protéines : les résultats obtenus dépassent la valeur moyenne plus deux écarts-types à partir de 10 jours de conservation au réfrigérateur ; la conservation est bonne au congélateur ;
- . albumine : mêmes conclusions ;
- . calcium : les résultats obtenus sont mauvais à partir du 18° jour en réfrigérateur et constamment bons au congélateur ;
- . bilirubine : la conservation au réfrigérateur est mauvaise à partir du 10° jour ; elle est bonne au congélateur ;
- . urée : mêmes conclusions ;
- . glucose : la conservation est mauvaise au réfrigérateur à partir du 7° jour ; elle est parfaite au congélateur ;

CHAPITRE II

QUELQUES SERUMS DE CONTROLE UTILISES A L'HOPITAL NORD (MARSEILLE)

Il est pratiquement impossible de dresser une liste exhaustive des sérums de contrôle car leur marché est en pleine expansion et de nombreuses firmes pharmaceutiques ou non se lancent dans leur préparation. Ils diffèrent par le nombre et la nature des constituants, l'origine, le laboratoire de fabrication, etc. Pour la plupart de ces sérums, les valeurs normales limites pour chaque paramètre sont connues, l'intervalle de confiance précisé et ceci en fonction des méthodes ou instruments utilisés dans le laboratoire.

- . Validate : c'est un sérum de contrôle normal préparé par lyophilisation du sérum humain frais congelé par General Diagnostics, New-Jersey, U.S.A.
- . Validate E.L. : il est lyophilisé et à taux de lipides élevés. Ses constituants correspondent aux déterminations les plus couramment effectuées lors de l'établissement d'un bilan lipidique. Fabricant : Précibio, Rueil-Malmaison, France.
- . Chemonitor I.E. Les activités et les concentrations des paramètres se trouvent dans le domaine pathologique. Il est préparé par les laboratoires Merz et Dade, Suisse.
- . Q-Pak I : c'est un sérum de contrôle humain à taux normaux, fabriqué par Hyland (Division Travenol Laboratoires, Belgique).
- . Q-Pak II : il est fabriqué à partir de sérum humain lyophilisé, non titré et "pathologique" par Hyland (Laboratoires Travenol, France).

- . Séralon H Normal, Séralon H Anormal : ce sont deux sérums de contrôle (le premier normal et le second "pathologique") préparés par Eurobio, Paris.
- . Précinorm E, Précipath E : ces sérums de contrôle sont très clairs : ils ne contiennent comme paramètres que les enzymes. Le premier est à taux normaux, le deuxième est "pathologique". Nous les utilisons seulement au Multistat. Fabricant : Boehringer, Mannheim, Allemagne Fédérale.
- . Wellcome : c'est un sérum ponctuel non titré (pour le contrôle interlaboratoire), préparé et envoyé par les "Wellcome Research Laboratories", England.
- . Les sérums O, P et X : ce sont des sérums de contrôle non titrés. On établit, tous les mois, la moyenne des valeurs quotidiennes trouvées pour chaque substance dosée. Les sérums O et P sont préparés par les Laboratoires Ortho, le sérum X envoyé par le laboratoire Pastor, Hôpital Sainte-Marguerite, Marseille.
- . "L'inconnu" : c'est un sérum de contrôle titré (Validate, Q-Pak I ou II, Séralon H normal ou anormal, etc.), mais dont le titre est inconnu du manipulateur. Comme les sérums O, P et X, il est donné à doser tous les jours.

Les sérums titrés servent uniquement pour le contrôle intralaboratoire. Par contre, les sérums de contrôle non titrés sont utilisés à la fois pour le contrôle intralaboratoire et surtout pour le contrôle interlaboratoires.

N.B. Nous avons besoin simultanément de sérums de contrôle et de sérums de référence. Les sérums de référence sont lyophilisés, généralement d'origine humaine, et régénérés au moment de l'emploi soit avec de l'eau distillée, soit avec une solution de bicarbonate d'ammonium. Il est indispensable de disposer tous les jours d'un volume important d'un tel sérum.

Nous parlerons, dans la troisième partie du travail, des résultats expérimentaux de nos méthodes de contrôle sur les différents appareils (SMA, Astra, Multistat, électrophorèse et méthodes manuelles).

III ème PARTIE

RESULTATS DE NOS METHODES DE CONTROLE DE QUALITE DES EXAMENS

CHAPITRE I

GENERALITES SUR NOS METHODES DE CONTROLE

Les nécessités d'un contrôle de qualité sont admises par tous à l'heure actuelle. Le colloque organisé à Pont-à-Mousson par Siest (1970), suivi des Journées Nationales de Biologie à Lyon et du Séminaire tenu en 1977 au Centre Hospitalier Universitaire d'Abidjan, suffisent pour démontrer que les biologistes ont pris conscience de son importance. Ce contrôle peut être réalisé avec des sérums titrés ou non. Nous avons utilisé les uns et les autres.

Les appareils utilisés en biochimie clinique ne peuvent être correctement réglés que grâce à l'utilisation de sérums de référence. Pour placer ces derniers et les sérums de contrôle dans le cadre de notre étude, il est indispensable d'évoquer au préalable le problème de l'étalonnage de ces appareils.

1 - Etalonnage des appareils

- Les auto-analyseurs Technicon sont très répandus à l'heure actuelle. Il convient d'insister sur une de leurs particularités qui réside dans la comparaison constante des colorations obtenues avec des substances étalons d'une part et des substances à doser d'autre part. Cette comparaison peut être faite en utilisant comme "référence" soit plusieurs solutions étalons, soit un sérum dont on connaît la teneur en espèces chimiques que l'on dose. De nombreux auteurs s'accordent pour dire qu'il est préférable d'étalonner les appareils avec des solutions se

rapprochant le plus possible de la nature des sérums ou plasmas à analyser. Si la valeur annoncée pour la solution étalon est fautive, toutes les lectures ultérieures seront entachées d'erreur.

Les appareils automatiques à flux continu et à analyses séquentielles multiples (type SMA , Technicon) étant "linéarisés" (déplacement de l'aiguille de l'enregistreur en relation linéaire avec la concentration), l'étalonnage se ramène à un ajustage, en début d'analyse, du zéro de l'échelle des valeurs sur les réactifs, ainsi qu'à un contrôle périodique du réglage de la valeur élevée pour les différents paramètres étudiés en faisant appel à un sérum de référence pour lequel les concentrations en ces paramètres sont connues. Ces valeurs indiquées doivent être exactes. Pour vérifier ceci, il faut disposer un ou plusieurs sérums de contrôle dans la chaîne d'analyses.

- La calibration de l'Astra, Beckman utilise des solutions dites "Beckman I et II".
- Le Multistat I.L., dans le cas des déterminations d'activités enzymatiques, utilise des sérums de contrôle titrés (Précinorm, Précipath) à taux normaux et pathologiques. Dans le cas des mesures en "point final", on emploie un sérum étalon de concentration connue servant de référence pour le calcul des concentrations des échantillons d'une série de dosages.
- Les méthodes manuelles exigent, pour chaque paramètre, un étalonnage utilisant des solutions standards stabilisées à des concentrations bien précises.
- L'électrophorèse des protéines est réalisée par une technique n'utilisant pas des solutions étalons, mais un sérum de contrôle 0 pour chaque bande.

2 - Nos méthodes de contrôle de qualité des analyses

Parmi les nombreuses méthodes proposées pour le contrôle de qualité, les mieux connues sont basées sur l'utilisation d'un sérum de contrôle (ou d'un pool de sérums) qui est analysé quotidiennement avec les séries d'analyses du jour. Les résultats obtenus avec ce sérum sont utilisés pour la préparation d'une carte de contrôle qui permet d'estimer, par des formules convenables, l'écart-type, les limites de confiance et le coefficient de variation de la méthode.

Pour contrôler la précision d'une méthode, on peut employer un pool de sérums ou bien un sérum de composition inconnue. Si l'on veut contrôler aussi l'exactitude des données analytiques, il faut introduire dans la série du jour une ou deux fois par semaine, un sérum de contrôle de composition connue, normale ou pathologique, qui servira de référence.

Bien qu'il soit simple et convenable, ce système de contrôle est sujet à une source d'erreur très insidieuse : la connaissance préalable de la composition des sérums de contrôle peut influencer les résultats des analyses. Cette source d'erreur est présente, même lorsqu'on utilise des autoanalyseurs avec lecture manuelle des résultats ; elle est supprimée seulement si l'on emploie des analyseurs automatiques avec impression directe des résultats, puisque, dans ce cas, il n'y a aucun facteur subjectif qui puisse intervenir sur la lecture.

Nous évitons cette source d'erreur en marquant les sérums de contrôle titrés comme s'ils étaient des sérums de routine non titrés et en employant aussi des sérums de contrôle toujours différents. Ce sérum dont le titre est inconnu du manipulateur, dans notre laboratoire, est appelé "Inconnu du jour".

Grant a recommandé, en 1961, une méthode de contrôle, comme moyen de vérification de la stabilité des substances contenues dans les liquides biologiques, qui utilise les sérums de routine. L'échantillon de la routine est pris au hasard et partagé dans deux tubes à essai. Le premier échantillon suivra la série analytique normale, le second sera conservé d'une façon convenable et analysé le jour suivant. Après

exécution, les résultats sont comparés et enregistrés sur la carte de contrôle. Cette méthode de contrôle a été recommandée par Whitby et coll. (1967) pour le contrôle de qualité. Dans notre laboratoire, nous l'employons d'une façon régulière pour toutes les analyses de routine ; mais le deuxième échantillon n'attend pas le jour suivant : il est analysé l'après-midi par les internes de garde.

Les sérums non titrés (O, P et X) et le sérum titré "inconnu" passent tous les jours sur les différents appareils de dosage, contrairement à d'autres utilisés pour des dosages ponctuels (exemple : Wellcome). Les résultats quotidiens ainsi obtenus permettent l'établissement des cartes de contrôle, une pour chaque paramètre dosé. La figure n° 8 représente une carte de contrôle du Laboratoire Ortho pour le glucose.

CONCLUSION

Cette méthode de contrôle a été bien accueillie par les analystes. Nous sommes convaincus qu'elle présente, au moins dans le cas d'analyses qui ne sont pas entièrement automatisées, des avantages considérables si l'on veut estimer l'écart-type et le coefficient de variation d'une façon vraiment objective. En effet, c'est l'utilisation statistique des données qui est importante : elle a été négligée jusqu'ici, mais elle mérite de trouver une place dans les laboratoires.

CHAPITRE II

SMA II TECHNICON

C'est un analyseur biochimique automatisé. Il permet de faire simultanément les analyses suivantes : chlore, dioxyde de carbone, sodium/potassium, urée, glucose, protides totaux, calcium, phosphore, acide urique et créatinine. Le SMA II est donc multicanal ; dans les différents canaux, des bulles d'air fractionnent les fluides.

I - METHODES D'ANALYSES

1 - Chlore

C'est un dosage colorimétrique des chlorures dans les liquides biologiques. Après dialyse de l'échantillon prédilué, les ions chlorures agissent sur le complexe TPTZ (Tri-Pyridyl-S-Triazine) - mercure pour donner du chlorure mercurique et du TPTZ libre.

Le TPTZ libre réagit au contact des ions ferreux du réactif et forme un complexe coloré bleu. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité de chlorure de l'échantillon. La lecture se fait à 600 nm.

Valeurs normales : 98 - 108 mEq/l = 98-108 mmol/l.

2 - Dioxyde de carbone

L'échantillon de sérum est ajouté à de l'eau distillée. Il est encore dilué par addition du diluant acide. Le mélange est porté à 37,5°C où le dioxyde dissous est rapidement libéré. A travers une membrane de silicone, le dioxyde diffuse alors dans un réactif constitué par

une solution alcaline contenant du rouge de crésol, comme indicateur coloré. Ceci entraîne une diminution du pH et une augmentation de l'intensité de la coloration rouge de l'indicateur. L'absorbance du mélange analytique est mesurée à 420 nm.

Valeurs normales : 24-32 mmol/l.

3 - Sodium/Potassium

Cette méthode utilise un photomètre à flamme, déterminant simultanément les concentrations de sodium et de potassium. L'opération a lieu en présence de sulfate acide de lithium, utilisé comme standard interne.

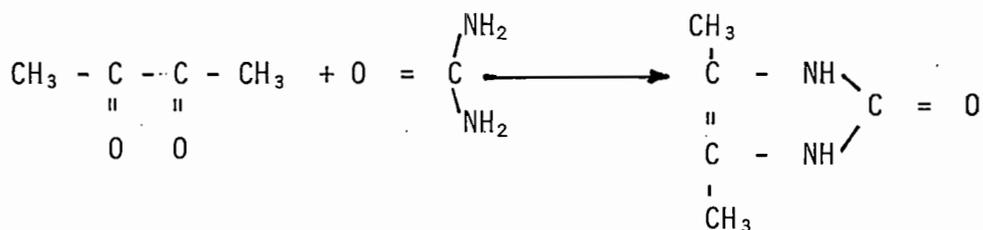
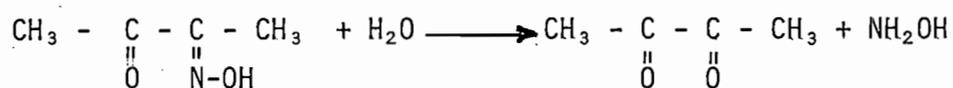
Le mélange est dialysé, puis atomisé par un courant d'air et enfin introduit dans une flamme de méthane/air comprimé ou propane/air comprimé.

Valeurs normales : Sodium : 135-145 mEq/l \approx 135 - 145 mmol/l
Potassium : 3,5 - 5 mEq/l = 3,5 - 5 mmol/l

4 - Urée

Dans une solution légèrement acide, la diacétylmonoxime est hydrolysée en diacétyl qui réagit directement avec l'urée en présence d'ions ferriques. L'addition au milieu de thiosemicarbazide intensifie la coloration de la réaction.

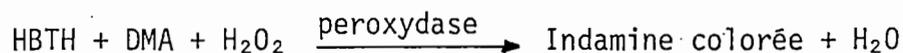
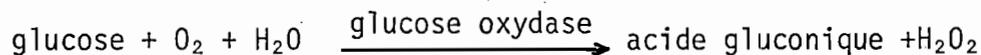
Les molécules d'urée solubilisées dans l'eau dialysent à travers une membrane sémiperméable dans un récipient contenant la diacétylmonoxime et le thiosemicarbazide. Il y a ensuite intervention du chlorure ferrique et de l'acide sulfurique. Le flux réactionnel passe dans un bain chaud à 90°C d'où il arrive au colorimètre. L'absorbance est mesurée à 520 nm.

Réactions :

Valeurs normales : 2,5 - 6,6 mmol/l

5 - Glucose

Le dosage du glucose combine la spécificité de la réaction à la glucose-oxydase à une réaction à la peroxydase. L'échantillon est dilué, dialysé dans un réactif tamponné contenant de la glucose-oxydase. Le milieu est incubé à 37,5°C. Une solution de 3-méthyl-2 benzothiazolinone hydrazone chlorhydrique (MBTH) et de diméthylaniline (DMA) est ajoutée au mélange. Après addition d'eau oxygénée, on observe l'apparition d'un composé stable, intensément coloré : l'indamine. La quantité de colorant est proportionnelle à la quantité de glucose. La coloration stable bleue est mesurée à 600 nm.

Réactions :

Valeurs normales : 3,9 - 6,1 mmol/l.

6 - Protides totaux

La méthode de dosage des protides totaux utilise deux canaux réactionnels indépendants mais intimement liés : un canal pour l'échantillon et un canal pour le blanc.

- Dans le premier canal, le sérum prédiulé est ajouté au réactif du biuret. Les protides sériques forment avec le réactif du biuret un composé de coloration pourpre. Le tartrate de sodium et de potassium utilisé est un agent complexant du cuivre. L'iodure de potassium empêche l'autoréduction du complexe.
- Dans le deuxième canal (blanc), le sérum s'ajoute à la solution du blanc qui contient tous les constituants du réactif du biuret sauf le sulfate de cuivre et le tartrate de sodium et de potassium. L'absence de ces deux composants du blanc empêche la formation de coloration spécifique dans ce canal.
La différence d'absorbance est lue à 550 nm.

Valeurs normales : 60 - 80 g/l.

7 - Calcium

Le sérum prédiulé est ajouté à une solution d'acide chlorhydrique contenant de la 8-hydroxyquinoline. L'acide libère les ions calcium liés aux protéines et la 8-hydroxyquinoline capte les ions magnésium du sérum. Ainsi les ions Ca^{++} sont dialysés dans la crésophtaléine-complexon. Après addition de diéthylamine, un complexe coloré se forme entre le calcium et le colorant de crésophtaléine. On opère en présence de cyanure de potassium pour stabiliser la réaction et éliminer les interférences des métaux lourds. L'absorbance de la solution colorée est mesurée à 570 nm.

Valeurs normales : 2,12 - 2,62 mmol/l.

8 - Phosphore

Le sérum est ajouté au diluant pour phosphate inorganique et dialysé. Les phosphates contenus dans le diffusat sont mélangés avec une solu-

tion acide de molybdate d'ammonium. Il se forme de l'acide phosphomolybdique. Le réactif à l'hydrazine et au chlorure d'étain réduit cet acide en molybdène bleu. La coloration est mesurée à 660 nm.

Valeurs normales : 0,80 - 1,45 mmol/l.

9 - Acide urique

La méthode est basée sur la réduction de l'acide phosphotungstique par ce composé. Le tungstate de sodium utilisé est un agent alcalinisant et l'hydroxylamine intensifie la coloration.

Le sérum est dilué, puis dialysé contre une solution de tungstate sodique et d'hydroxylamine. Ainsi les protéines et les autres interférences sont éliminées. L'addition d'acide phosphotungstique entraîne la formation d'un complexe coloré dont la quantité est proportionnelle à celle de l'acide urique du sérum. La lecture se fait à 660 nm.

Valeurs normales : 130 - 410 $\mu\text{mol/l}$.

10 - Créatinine

Ce dosage utilise la réaction de l'acide picrique saturé sur la créatinine en milieu alcalin (réaction de Jaffé). L'échantillon de sérum est dilué avec une solution de chlorure de sodium à 1,8%. Le dialyseur sépare la créatinine des protéines et d'autres substances gênantes. Le milieu est alcalinisé par une solution de soude 0,5 N ; ensuite la solution saturée d'acide picrique est ajoutée. La réaction se passe à la température du laboratoire. L'absorbance du flux analytique est mesurée à 505 nm.

Valeurs normales : 60 - 120 $\mu\text{mol/l}$.

II - RESULTATS OBTENUS AVEC LES SERUMS DE CONTROLE UTILISES

Nous avons envisagé l'étude de trois sérums de contrôle titrés (Séralon H anormal, lot 2582 ; Q-Pak II "pathologique", lot P11 ; Validate

normal, lot 1129019 W) et de trois sérums non titrés (O, P et X). Ces sérums sont retenus pour leur bonne reproductibilité. Chacun d'eux a été analysé au moins vingt fois, ce qui nous a permis de déterminer la moyenne, l'écart-type et le coefficient de variation. Dans les tableaux, nous donnons les résultats obtenus pour chaque paramètre dosé :

. Sérums titrés : Tableau N° 4 ;

. Sérums non titrés : Tableau N° 5 ;

III - CONCLUSION

Nous constatons ici que les coefficients de variation sont tous inférieurs ou très voisins de 5%, sauf pour le CO₂ qui donne souvent une variation dépassant 27%. En définitive, les résultats expérimentaux que nous venons de présenter nous permettent de conclure que les sérums de contrôle dont nous disposons sont pratiquement tous conformes.

Le SMA II est donc un analyseur fiable et très reproductible.

Peut-on réellement penser que la méthodologie du dosage du CO₂ n'est pas bonne : autrement dit, est-ce que le chiffre donné par le SMA ne correspond pas à la concentration réelle du CO₂ dans l'échantillon ?

Il ne faut pas perdre de vue que le CO₂ est un paramètre volatil : le dosage du CO₂ dans la technique de mesure des gaz du sang tient scrupuleusement compte de cette donnée (prélèvement dans une seringue à l'abri de l'air) ; par contre, que peut-on attendre d'une technique où les échantillons sont conservés à l'air libre pendant un temps plus ou moins long ? Par ailleurs, comment ne pas admettre que des sérums lyophilisés n'aient pas perdu la plus grande partie de leur CO₂ et cela d'une manière très inconstante : n'est-ce pas le sens à la fois des valeurs très basses -n'ayant pratiquement plus de signification étant donné qu'elles sont parfois inférieures aux limites de détection de l'appareil- et des C.V. très élevés donnés par le Validate "normal"

SUBSTANCES A DOSER		Cl ⁻	CO ₂	K ⁺	Na ⁺	UREE	GLU.	P.T.	Ca ⁺⁺	P.In.	A.U.	CREA.
SERALON/H ANORMAL	V.A.	117	9,0	7,2	153	19,5	19	55	3,20	2,32	585	830
	\bar{X}	120	8,9	7,2	153	19,9	18	55	3,17	2,34	582	819
	σ	2,22	0,61	0,11	1,74	0,33	0,31	1,68	0,05	0,09	13,84	9,67
	C.V.	1,85	6,85	1,52	1,13	1,65	1,72	3,05	1,57	3,84	2,37	1,18
Q-PAK II PATHOLOGIQUE	V.A.	115		5,7	154	15,0	11,6	57	3,40	2,80	610	425
	\bar{X}	115		5,7	153	14,8	11,6	56	3,32	2,71	609	437
	σ	2,83		0,09	1,83	0,39	0,27	2,27	0,07	0,16	61,13	7,04
	C.V.	2,46		1,57	1,19	2,63	2,32	4,05	2,10	5,90	10,03	1,61
VALIDATE NORMAL	V.A.	103	3,0	4,5	137	5,7	5,1	64	2,52	1,32	280	86
	\bar{X}	104	2,3	4,5	136	5,8	4,6	62	2,45	1,33	274	79
	σ	1,50	0,64	0,18	1,19	0,14	0,08	1,33	0,03	0,02	3,84	2,20
	C.V.	1,44	27,82	4,00	0,87	2,41	1,73	2,14	1,22	1,50	1,40	2,78

N.B. CO₂n'est pas dosé dans le Q-Pak II par le laboratoire de préparation.

V.A.	:	Valeur affichée	P.In.	:	Phosphate inorganique
Glu.	:	Glucose	A.U.	:	Acide urique
P.T.	:	Protides totaux	CREA.:	:	Créatinine
C.V.	:	Coefficient de variation			

TABLEAU No 4
RESULTATS OBTENUS AVEC LES SERUMS DE CONTROLE TITRES

SUBSTANCES												
A		Cl ⁻	CO ₂	K ⁺	Na ⁺	UREE	GLU.	P.T.	Ca ⁺⁺	P.In.	A.U.	CREA.
DOSER												
S E R U M O	V.C.	93	2,1	2,7	126	5,6	5,2	41	2,08	1,25	250	93
	\bar{X}	92	1,9	2,7	126	5,7	5,1	40	2,07	1,24	252	92
	σ	1,23	0,38	0,06	0,76	0,10	0,07	1,50	0,02	0,009	4,81	2,75
	C.V.	1,33	20	2,22	0,60	1,75	1,37	3,75	0,96	0,72	1,90	2,98
S E R U M P	V.C.	112	2,1	5,4	146	14,3	14,2	60	2,81	2,31	548	250
	\bar{X}	112	1,9	5,4	147	14,2	14,3	59	2,83	2,36	544	250
	σ	1,50	0,52	0,05	1,25	0,19	0,26	1,49	0,03	0,03	10,95	3,37
	C.V.	1,33	27,36	0,92	0,85	1,33	1,81	2,52	1,06	1,27	2,01	1,34
S E R U M X	V.C.	102	14,8	4,6	142	15,3	7,8	72	2,56	1,68	486	187
	\bar{X}	106	15,5	4,8	140	15,5	8,5	73	2,55	1,80	435	173
	σ	1,17	0,61	0,05	0,67	0,11	0,05	1,32	0,02	0,02	3,64	3,26
	C.V.	1,10	3,93	1,04	0,47	0,70	0,58	1,80	0,78	1,11	0,83	1,88

V.C. : Valeur cible pour l'ensemble des laboratoires de notre méthode

TABLEAU No 5

RESULTATS OBTENUS AVEC LES SERUMS DE CONTROLE NON TITRES

et les sérums O et P ? Par contre, dès que les valeurs s'élèvent, le C.V. s'abaisse corrélativement : cas des sérums Séralon Anormal et surtout X. On peut donc penser que, pour les échantillons de sérums de patients qui encourent eux-aussi la critique de l'évaporation mais ne sont pas lyophilisés et chez lesquels on trouve toutes sortes de valeurs y compris les valeurs très élevées, valeurs généralement en bon accord avec celles données par les paramètres en liaison avec le CO_2 comme Cl^- et Na^+ , le coefficient de variation est beaucoup plus faible.

CHAPITRE III

ASTRA BECKMAN

L'Astra est un analyseur d'urgence et de routine entièrement contrôlé par microprocesseur. Il contient les modules d'analyse suivants : urée, sodium, potassium, chlore, dioxyde de carbone, glucose et créatinine.

I - FONCTIONNEMENT ET METHODOLOGIES ANALYTIQUES

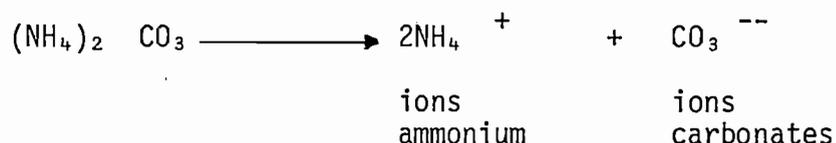
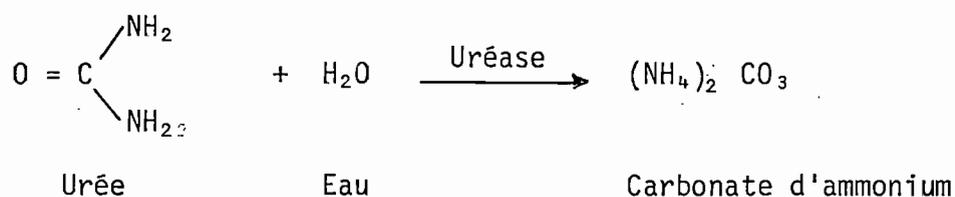
L'Astra peut fonctionner de trois façons :

- . En routine : il dose tous les paramètres sur tous les godets ;
- . en mode programmé : il dose des paramètres présélectionnés sur les godets qu'on lui indique ;
- . en mode d'urgence : il permet de rendre en quelques minutes les analyses demandées sans pour autant perturber la série en cours.

Voyons brièvement les méthodes d'analyse utilisées sur l'Astra.

1 - Urée :

Le module analytique pour le dosage de l'urée utilise comme principe une cinétique de conductivité pendant la réaction enzymatique à l'uréase. Le détecteur est une électrode constituée de deux plaques d'or. On mesure la conductivité entre ces deux plaques. Son augmentation est proportionnelle à la concentration d'urée.



Ce sont ces ions NH_4^+ qui entraînent une augmentation de la conductivité du mélange final.

Valeurs normales : 2,5 - 6,6 mmol/l.

2 - Sodium/Potassium

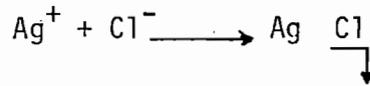
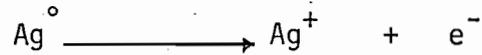
C'est une mesure effectuée au moyen d'électrodes spécifiques. Lorsque les électrodes sont en contact avec un échantillon, il y a une migration ionique et donc une variation du potentiel. Ces variations de potentiel sont mesurées par rapport à une électrode de référence.

L'électrode de mesure pour le sodium est en verre ; celle pour la mesure du potassium utilise une membrane contenant de la valinomycine. Les électrodes sont baignées dans un tampon "conditionneur".

Valeurs normales : Sodium : 135-145 mmol/l ;
Potassium : 3,5-5 mmol/l.

3 - Chlore

Le dosage du chlore utilise un titrage coulométrique. Un générateur produit des ions Ag^+ qui se combinent aux ions chlorures Cl^- . Le nombre d'ions Ag^+ nécessaire pour titrer le chlore est directement proportionnel à la quantité de chlore présent dans l'échantillon.



Le léger excès d'ions Ag^{+} provoque à la cathode la réaction $\text{Ag}^{+} + \text{e}^{-} \longrightarrow \text{Ag}^{\circ}$ qui arrête le générateur coulométrique.

Valeurs normales : 98 - 108 mmol/l.

4 - Dioxyde de carbone

Le principe de mesure du dioxyde de carbone est une cinétique différentielle du pH. Lorsqu'un échantillon est injecté dans la cuve, toutes les formes de dioxyde de carbone (CO_2) sont converties en CO_2 gazeux suivant la réaction :

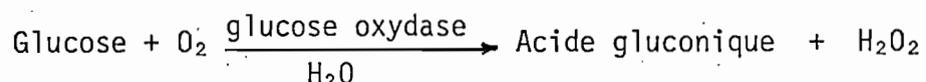


Une quantité proportionnelle de CO_2 dégagé diffuse à travers la membrane de silicone couvrant l'électrode de pH. Ainsi, le pH de la solution de bicarbonate situé entre la membrane et l'électrode de pH est modifié. La vitesse de variation du pH est directement proportionnelle à la concentration de CO_2 contenu dans l'échantillon.

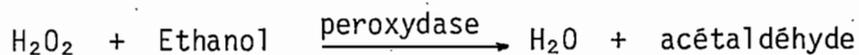
Valeurs normales : 24-32 mmol/l.

5 - Glucose

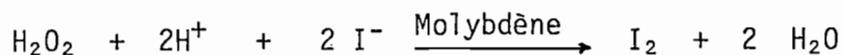
Le dosage du glucose est réalisé par la mesure de la vitesse de consommation d' O_2 pendant la réaction enzymatique à la glucose-oxydase et cela à l'aide d'une électrode d'oxygène.



Dans cette réaction, O_2 est consommé à la même vitesse que le glucose est transformé en acide gluconique. Le réactif contient de l'éthanol qui empêche la décomposition de l'eau oxygénée en oxygène actif :



En outre, de l'iode et du molybdène sont ajoutés au réactif afin de détruire complètement un éventuel reliquat d'eau oxygénée suivant la réaction :



L'oxygène diffuse à travers une membrane et on mesure par polarographie la vitesse de la réaction.

Valeurs normales : 3,9 - 6,1 mmol/l

6 - Créatinine

L'analyse de la créatinine se fait par mesure de la variation de densité optique (coloration rouge) après injection d'un échantillon dans une solution alcaline d'acide picrique (Réaction de Jaffé). La détection photométrique est effectuée à une longueur d'onde de 520 nm.

Cette méthode est optimisée de façon à éliminer la plus grande partie des interférences habituellement rencontrées comme l'hémolyse ou l'excès de bilirubine. Elle présente l'avantage d'augmenter considérablement la spécificité de la technique.

Valeurs normales : 60 - 120 $\mu\text{mol/l}$.

II - RESULTATS EXPERIMENTAUX DU CONTROLE DE QUALITE

Après plusieurs analyses à l'Astra, les mêmes sérums O, P et X ont donné les résultats portés sur le tableau n° 6.

N.B. Les sérums titrés n'ont pas été essayés à l'Astra.

SUBSTANCES A DOSER		UREE	Na ⁺	K ⁺	Cl ⁻	CO ₂	GLU.	CREA.
S E R U M O	V.C.	5,8	127	2,8	93	1,3	5,1	92
	\bar{X}	5,7	127	2,8	93	1,3	5,0	91
	σ	0,39	0,98	0,07	1,09	0,21	0,16	2,70
	C.V.	6,84	0,77	2,50	1,17	16,15	3,20	2,96
S E R U M P	V.C.	13,8	148	5,5	112	1,3	14,1	246
	\bar{X}	13,5	148	5,5	113	1,2	14,0	241
	σ	0,38	1,13	0,15	1,50	0,17	0,49	5,70
	C.V.	2,81	0,76	2,72	1,32	14,16	3,50	2,36
S E R U M X	V.C.	14,5	141	4,5	102	13,7	7,5	171
	\bar{X}	14,6	143	4,9	107	14,2	8,2	153
	σ	0,53	1,16	0,14	1,50	0,98	0,25	4,02
	C.V.	3,63	0,81	2,85	1,40	6,90	3,04	2,62

TABLEAU No 6

RESULTATS OBTENUS A L'ASTRA

CONCLUSION

Les résultats sont très acceptables. Tous les coefficients de variation sont inférieurs à 5%, sauf pour l'urée qui donne un coefficient de 6,84% dans le sérum 0 et le CO_2 dont la variation va de 6,90% (sérum X) à 16,15% (sérum 0) : même remarque que pour le SMA.

La méthodologie qu'utilise l'Astra est trop sophistiquée. L'appareil, grâce à ses électrodes spécifiques, est plus sensible que le SMA II ; c'est pourquoi les résultats sont plus dispersés, bien qu'ils restent toujours corrects. Mais c'est, avant tout, une technique rapide et qui utilise une très petite quantité d'échantillon.

CHAPITRE IV

MICRO-ANALYSEUR CENTRIFUGE : IL. MULTISTAT III

Le multistat est conçu pour effectuer un certain nombre de dosages biochimiques sur le sérum ou sur le plasma. Il est capable de procéder à des déterminations en point final, en cinétique ou à plusieurs longueurs d'onde (bichromatisme) avec une très grande souplesse et une très bonne exactitude. L'appareil est programmable afin de permettre à l'utilisateur de l'adapter à de nouvelles déterminations.

Dosages effectués au Multistat : Cholestérol, bilirubine totale, triglycérides, amylase, phosphatases (alcalines, acides), transaminases (GO, GP), lactate-déshydrogénase, créatine - kinase et gamma glutamyl transpeptidase.

I - METHODOLOGIES ANALYTIQUES

1 - Cholestérol : les esters du cholestérol sont hydrolysés en cholestérol et acides gras par une ester-hydrolase. Le cholestérol ainsi libéré, tout comme le cholestérol pré-existant dans l'échantillon, sont ensuite oxydés par une cholestérol-oxydase. Le peroxyde d'hydrogène produit réagit avec la 4-amino-antipyrine et le phénol en présence de peroxydase. La quinone-imine formée est rouge. La coloration est mesurée à 500 nm.

Valeurs normales : 3,3 à 6,4 mmol/l.

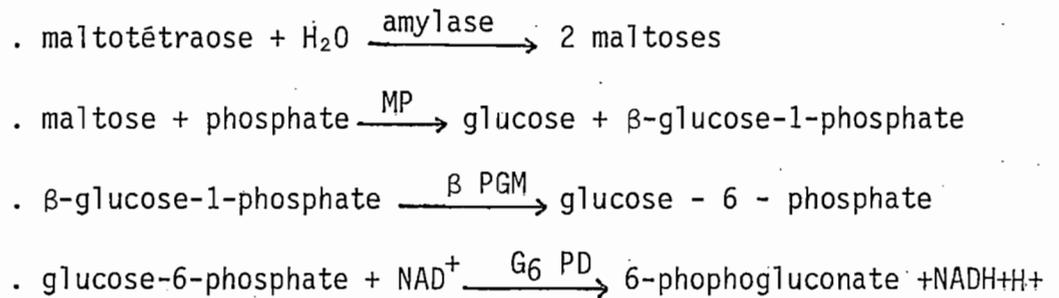
2 - Bilirubine totale : les bilirubines libre et conjuguée réagissent avec l'acide sulfanilique diazoté (réactif Ehrlich) pour former l'azobilirubine qui a un maximum d'absorbance à 550 nm dans le diméthyl sulfoxyde (DMSO) en solution. La lecture du blanc est réalisée à 620 nm.

Valeurs normales : jusqu'à 17 μ .mol/l.

3 - Triglycérides : ils sont hydrolysés enzymatiquement en glycérol et en acides gras libres par une préparation spéciale de lipase. Le glycérol est converti en glycérol-1-phosphate en présence de glycérol-kinase (GK) et d'ATP (adénosine-triphosphate) qui donne l'ADP (adénosine-diphosphate). L'ADP réagit avec le phosphoénoyl pyruvate qui est transformé par la pyruvate kinase (PK) en pyruvate. Le pyruvate est réduit par la LDH (lactico-déshydrogénase) qui oxyde corrélativement le NADH (nicotinamide-adénine-dinucléotide réduit) en NAD (nicotinamide-adénine-dinucléotide). Cette oxydation est suivie au spectrophotomètre par décroissance de l'absorbance à 340 nm.

Valeurs normales : 0,8 à 2 mmol/l.

4 - Amylase : le substrat maltotétraose est hydrolysé par l' α -amylase de l'échantillon pour donner deux molécules de maltose. La chaîne des réactions du dosage est la suivante :



MP : maltophosphorylase

β -PGM : β -phosphoglucomutase

G6PD : glucose-6-phosphate déshydrogénase.

Après l'incubation (à 30 ou 37°C), l'absorbance est lue et enregistrée.

Valeurs normales : 10-55 UI/l à 37°C.

5 - Phosphatases alcalines : les phosphatases alcalines catalysent l'hydrolyse du paranitrophényl phosphate en paranitrophénoyl et en phosphate inorganique. Le paranitrophénoyl est sous forme d'ions phénylates dissociés qui, au pH de la réaction (9,8), ont une coloration

jaune que l'on lit à 405 nm.

Valeurs normales : 60 - 200 UI/l à 25°C.

6 - Transaminase glutamique-oxaloacétique (GOT) : la GOT accélère simultanément la transformation de l'acide α - céto-glutarique en acide glutamique et de l'acide aspartique en acide oxaloacétique. L'acide oxaloacétique est converti en acide malique par la malate déshydrogénase (MDH) qui oxyde le NADH en NAD. L'oxydation est suivie photométriquement à 340 nm.

Valeurs normales : jusqu'à 20 UI/l à 25°C.

7 - Transaminase glutamique-pyruvique (GPT) : elle accélère simultanément la transformation de l'acide α -céto-glutarique en acide glutamique et de l'alanine en acide pyruvique. Ce dernier est converti en acide lactique par la LDH. Il s'en suit une oxydation de NADH en NAD. L'absorbance se mesure également à 340 nm.

Valeurs normales : jusqu'à 25 UI/l à 25°C.

8 - Lactate déshydrogénase (LDH) La LDH accélère l'oxydation du lactate en pyruvate en présence de NAD. La réduction concomitante de NAD en NADH est suivie au spectrophotomètre à 340 nm.

Valeurs normales : jusqu'à 90 UI/l à 25°C.

9 - Créatine-phosphokinase (CPK) : la CPK accélère le transfert du radical phosphate de la créatine-phosphate à l'adénosine-diphosphate (ADP), donnant ainsi la créatine et l'adénosine-triphosphate (ATP). Le glucose, présent dans le réactif, aux côtés de l'hexokinase, se transforme au fur et à mesure de l'apparition d'ATP, en glucose-6-phosphate qui est oxydé par la glucose-6-phosphate déshydrogénase (G-6-PD).

Dans cette dernière réaction, le NADP est réduit simultanément en NADPH. Cette réduction est suivie au spectrophotomètre par l'augmentation de l'absorbance à 340 nm.

Valeurs normales : jusqu'à 70 UI/l à 25°C.

10 - α -GT : la gammaglutamyltranspeptidase (GGTP) catalyse le transfert du groupe glutamyl du gamma-glutamyl-p-nitroanilide à la glycylglycine. La paranitroaniline ainsi formée est détectée par l'augmentation de l'absorbance à 405 nm.

Valeurs normales : jusqu'à 28 UI/l à 25°C.

II - RESULTATS DU CONTROLE DE QUALITE SUR LE MULTISTAT

Tous les sérums de notre étude ont été analysés plusieurs fois à cet appareil et les paramètres habituellement dosés au Multistat contrôlés. Les tableaux n° 7 et n° 8 donnent les résultats obtenus, respectivement avec les sérums de contrôle titrés et les sérums de contrôle non titrés.

CONCLUSION

Les triglycérides dosés dans les sérums titrés ont donné des coefficients de variation allant de 10 à 23% ; leur dosage est certes complexe car faisant intervenir plusieurs enzymes. Nous constatons aussi que, d'une manière générale, le coefficient de variation est très élevé pour les enzymes ; il excède même 20% dans certains cas. On peut lier cette grande variation à l'instabilité des substrats (exemple des CPK). Les sérums doivent être analysés immédiatement après le prélèvement.

Les techniques du Multistat sont assez reproductibles, mais l'appareil est moins sensible aux valeurs basses. Par ailleurs, le micro-analyseur centrifuge présente l'avantage de permettre une économie de réactifs

SUBSTANCES A DOSER		Chol.	Bili.	Trig.	Amy.	P.alc.	G O	G P	LDH	C K	γ -GT
SERALON / H ANORMAL	V.A.	3,5	100	1,20	90	265	51	48	182	122	62
	\bar{X}	3,6	86	1,18	92	238	53	47	167	135	44
	σ	0,14	5,84	0,23	6,84	14,55	11,57	5,79	9,97	20,77	6,67
	C.V.	3,88	6,79	19,49	7,43	6,11	21,83	12,31	5,97	15,38	15,15
Q-PAK II PATHOLOGIQUE	V.A.	2,7	101	1,00	874	235	85	78	221	79	31
	\bar{X}	2,9	86	1,09	727	220	78	65	226	91	25
	σ	0,15	8,29	0,25	21,13	23,22	15,46	7,97	36,47	19,54	6,04
	C.V.	5,17	9,63	22,93	2,90	10,55	19,82	12,26	16,13	21,47	24,16
VALIDATE NORMAL	V.A.	3,10	16	0,93	25	53	25	29	58	38	12
	\bar{X}	3,15	15	1,03	25	53	24	26	62	30	9
	σ	0,21	1,35	0,11	2,99	6,58	2,54	5,67	4,98	3,84	1,55
	C.V.	6,66	9,00	10,67	11,96	12,41	10,58	21,80	8,03	12,80	17,22

TABLEAU No 7

RESULTATS OBTENUS AVEC LES SERUMS DE CONTROLE TITRES

Chol. : cholestérol
 Bili. : bilirubine totale
 Trig. : triglycérides

Amy. : Amylase
 P. alc. : phosphatase
 alcaline

SUBSTANCES A DOSER		Chol.	Bili.	Trig.	Amy.	P.alc.	GO	GP	LDH	CK	γ -GT
S E R U M O	V.C.	1,8	10	0,56	27	134	9	26	66	42	21
	\bar{X}	1,8	12	0,54	26	133	8	25	62	43	26
	σ	0,11	1,33	0,03	2,74	6,27	1,95	2,40	4,29	7,33	4,28
	C.V.	6,11	11,08	5,55	10,53	4,71	24,37	9,60	6,91	17,04	16,46
S E R U M P	V.C.	2,6	35	0,79	52	310	27	74	215	185	47
	\bar{X}	2,6	39	0,75	50	310	26	76	219	196	57
	σ	0,14	2,36	0,03	3,83	17,84	2,66	4,62	7,07	37,41	9,25
	C.V.	5,38	6,05	4,00	7,66	5,75	10,23	6,07	3,22	19,08	16,22
S E R U M X	V.C.	4,1	93	0,52		263	87	135	134	86	33
	\bar{X}	4,3	96	0,61		242	87	136	135	81	26
	σ	0,15	2,87	0,06		12,77	5,03	5,10	9,34	7,84	1,81
	C.V.	3,48	2,98	9,83		5,27	5,78	3,75	6,91	9,67	6,96

TABLEAU No 8
RESULTATS OBTENUS AVEC LES SERUMS DE CONTROLE NON TITRES

N.B. L'Amylase n'est pas dosée dans le sérum X.

et d'éviter le gaspillage du sang des patients : il utilise de très petits volumes de sérums (de 3 μ l -pour le cholestérol- à 17 μ l -pour la bilirubine) et de réactifs (de 100 μ l -pour les γ -GT- à 150 μ l -pour les triglycérides). La relativement grande dispersion des résultats obtenus peut s'expliquer, en partie, par cet emploi de micro-volumes analytiques.

CHAPITRE V

ELECTROPHORESE DES PROTEINES, SEBIA CELLOSYSTEM

1 - Méthode utilisée

L'électrophorèse est réalisée sur acétate de cellulose. Les échantillons sont répartis sur des bandes permettant chacune quatre applications dont celle obligatoire du sérum de contrôle 0. La migration s'opère en tampon tris à 250 V pendant 30 min et la coloration dans le rouge Ponceau demande 10 min. Pour éliminer l'excès de colorant, on utilise l'acide acétique à 5%. Un bain de méthanol (2 min 30) transparise le support. Les bandes sont alors lavées avec un mélange méthanol/acide acétique/diacétoné alcool dans les proportions 300/80/20 et séchées pendant 20 min à l'étuve.

L'absorbance de chaque fraction est mesurée à 525 nm par analyse de la lumière transmise à travers les bandes. Un calculateur fait la somme des absorbances et donne le pourcentage de chaque fraction par rapport à l'absorbance totale. Le résultat est rendu sous forme d'un graphique accompagné des valeurs des pourcentages des différentes fractions protéiques.

On lit d'abord le profil du sérum de contrôle ; si le résultat est acceptable, on lit les autres bandes. Pour chaque sérum de contrôle, la valeur doit tomber dans la fourchette admise. La valeur du rapport $\frac{\text{Albumine}}{\text{Globulines}}$ est de 1,70 pour le sérum de contrôle 0, les valeurs comprises entre 1,60 et 1,80 étant tolérées.

Valeurs normales :

albumine	: 50 - 60%
α 1-globulines	: 2 - 4%
α 2-globulines	: 9 - 13%
β -globulines	: 11 - 15%

γ -globulines : 16 - 20%

A/G ($\frac{\text{Albumine}}{\text{Globulines}}$) : 1 - 1,5

2 - Résultats obtenus avec le sérum de contrôle 0

Cet appareil semi-automatique, nous l'avons dit, n'est pas étalonné en concentrations de protéines ; mais nous avons disposé sur chaque bande, à côté des trois sérums de patients, un échantillon de contrôle 0. Ceci nous a permis d'obtenir, tous les jours, plusieurs valeurs du rapport A/G pour le sérum 0.

La moyenne, l'écart-type et le coefficient de variation journaliers ont été calculés. Après un mois, nous avons déterminé, à partir de ces résultats quotidiens, la valeur moyenne mensuelle du rapport A/G, de l'écart-type et du coefficient de variation. Le Tableau N° 9 rassemble ces résultats.

CONCLUSION

L'électrophorèse est une méthode très reproductible : le coefficient de variation se situe aux environs de 2,5%. Mais les moyennes journalières ont été calculées à partir de valeurs déjà écartées. Ainsi, toutes les valeurs du rapport A/G inférieures à 1,50 ou supérieures à 1,80 ont été rejetées. Le nombre de bandes quotidiennes rejetées va de 0 à 3 pour un nombre total de 12 à 15 bandes, soit au maximum 20 à 25%.

Les sources d'erreur se situent surtout au niveau de la première phase de la technique qui est manuelle (dépôt des échantillons, migration, coloration, transparisation). La deuxième partie (intégration des résultats) est automatique ; là, l'erreur n'excède pas 0,5% sur l'albumine.

DATE (Octobre 81)	MOYENNE QUOTIDIENNE	ECART-TYPE QUOTIDIEN	COEFFICIENT DE VARIATION QUOTIDIEN EN %
1er	1,68	0,06	4
2	1,65	0,05	3
5	1,66	0,05	3
6	1,72	0,05	3
7	1,71	0,07	4
8	1,68	0,05	3
9	1,75	0,03	2
10	1,74	0,04	2
12	1,75	0,03	2
13	1,80	0,03	2
14	1,69	0,03	2
15	1,69	0,03	2
16	1,67	0,03	2
17	1,70	0,06	4
19	1,62	0,03	2
20	1,65	0,06	3
21	1,65	0,06	3
22	1,70	0,04	2
23	1,62	0,05	3
26	1,69	0,04	2
27	1,70	0,03	2
28	1,63	0,04	2
29	1,67	0,04	2
30	1,68	0,04	2
	MOYENNE MENSUELLE : $\bar{X} = 1,68$	ECART-TYPE MENSUEL : $\sigma = 0,043$	COEFFICIENT DE VARIATION MENSUEL : C.V. = 2,57

TABLEAU No 9

RESULTATS EXPERIMENTAUX OBTENUS AVEC LE SERUM O
A L'ELECTROPHORESE

CHAPITRE VI

METHODES MANUELLES

I - PRINCIPES DES ANALYSES

1 - Lipides totaux : les lipides totaux sont extraits sélectivement par l'isopropanol. En présence de sulfate de dextrane et de chlorure de magnésium, l'extrait lipidique forme un trouble dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en lipides. L'étalon contient 0,5 g. de lipides par litre, ce qui correspond à 10 g/l dans les conditions du dosage. On lit à 620 nm, contre le témoin.

Valeurs normales : 5-8 g/l.

2 - Fer sérique : le fer, lié dans le sang à la transferrine, est libéré à l'aide d'un détergent anionique, réduit en Fe^{++} par le dithionite de sodium et complexé avec le disulfonate bathophénanthroline. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration de fer. Il est inutile de précipiter les protéines. La lecture se fait entre 530 et 550 nm.

Valeurs normales :

homme : 10,5 - 28,3 $\mu\text{mol/l}$

femme : 6,63- 26 $\mu\text{mol/l}$

3 - Capacité de liaison du fer dans le sérum et le plasma : la transferrine est normalement saturée au 1/3 environ de sa capacité de fixation des ions Fe^{+++} . La part non liée de la transferrine représente la capacité latente de fixation du fer (CLFF).

Fer sérique + CLFF = capacité totale de fixation du fer (CTFF)

On mélange le sérum ou le plasma avec un excès de fer pour entraîner la saturation de la transferrine. Puis le fer non lié est précipité par le carbonate basique de magnésium. Dans le surnageant, on dose, comme précédemment, le fer lié à la transferrine (CTFF).

Valeurs normales : 50-72 $\mu\text{mol/l}$

4 - Magnésium sérique : le magnésium donne, en milieu alcalin, avec le bleu de xylidine II, un chélate rouge pourpre dont on mesure l'intensité de coloration à 515 nm. En présence de GEDTA (acide glycolétherdiamine-tétracétique), la coloration formée est spécifique du magnésium.

Valeurs normales : 0,74 - 1,03 mmol/l.

II - RESULTATS EXPERIMENTAUX DU CONTROLE DE QUALITE

Nous avons dosé, par des méthodes manuelles, quatre paramètres (lipides totaux, fer, capacité de liaison du fer, magnésium) dans les différents sérums de contrôle. Les résultats sont donnés dans les tableaux n° 10 (sérums titrés) et n° 11 (sérums non titrés).

CONCLUSION

Pour les lipides et le fer sérique, nous constatons que les coefficients de variation les plus élevés sont inférieurs à 12%. Les résultats sont acceptables. Il faut noter que les lipides demandent une manipulation longue et délicate et que la contamination est très importante dans la sidérémie (c'est pourquoi la détermination du fer sérique exige un matériel soigneusement lavé).

De toutes les méthodes manuelles, c'est la capacité totale de fixation du fer qui donne les variations les plus importantes. C'est une technique peu fiable, peu reproductible. On essaie de la remplacer par le dosage de la transferrine par une méthode immunologique.

Les contaminations sont également importantes avec le magnésium sérique, mais une bonne attention peut permettre d'obtenir des résultats corrects.

SUBSTANCES A DOSER		L.T.	FER	CTFF	Mg ⁺⁺
SERALON/H ANORMAL	V.A.	5,1	30	63	1,85
	\bar{X}	5,3	37	62	1,91
	σ	0,36	3,12	10,97	0,09
	C.V.	6,79	8,43	17,69	4,73
Q-PAK II PATHOLOGIQUE	V.A.	3,9	21	59	0,9
	\bar{X}	3,7	20	61	0,9
	σ	0,36	1,77	8,14	0,15
	C.V.	9,72	8,85	13,34	16,66
VALIDATE NORMAL	V.A.	5,0	22,23	57	0,80
	σ	3,8	20,37	58	0,80
	\bar{X}	0,32	1,30	4,13	0,08
	C.V.	8,42	6,38	7,12	10

TABLEAU No 10

RESULTATS OBTENUS AVEC LES SERUMS TITRES

L.T. : Lipides totaux
C.T.F.F. : Capacité totale de fixation du fer

SUBSTANCES A DOSER		L.T.	FER	CTFF	Mg ⁺⁺
SERUM O	V.C.	2,3	22	51	0,92
	\bar{X}	2,2	22	53	0,90
	σ	0,24	1,69	5,07	0,041
	C.V.	10,90	7,68	9,56	4,55
SERUM P	V.C.	3,3	40	60	2,4
	\bar{X}	3,1	39	62	2,3
	σ	0,26	2,76	8,40	0,16
	C.V.	8,38	7,07	13,54	6,95
SERUM X	V.C.	7,0	30	62	1,0
	\bar{X}	7,4	25	67	1,1
	σ	0,43	2,85	6,68	0,09
	C.V.	5,81	11,40	9,97	8,18

TABLEAU No 11

RESULTATS OBTENUS AVEC LES SERUMS NON TITRES

L.T. : Lipides totaux
CTFF : Capacité totale de fixation du fer

CONCLUSION

A l'heure actuelle, où les demandes d'analyses sont très nombreuses et les techniques de dosage de plus en plus automatisées, avec utilisation éventuelle d'un ordinateur, la nécessité d'un contrôle de qualité des examens s'impose avec acuité. Le contrôle de qualité doit être une préoccupation constante du biologiste. En effet, un bon contrôle de qualité doit comprendre un contrôle journalier intralaboratoire et un contrôle interlaboratoires qui peut être ponctuel ou bien résulter de la comparaison interlaboratoires des moyennes obtenues au cours d'un mois. L'analyste, soucieux de la qualité de ses résultats et de la performance de ses techniques, doit être en mesure d'effectuer continuellement ces contrôles et d'apporter les améliorations nécessaires.

Nous avons présenté dans notre mémoire, après une brève définition des notions de base, deux manières d'envisager le contrôle de qualité, à savoir : l'utilisation des sérums de contrôle titrés et l'utilisation des sérums non titrés. Les sérums de contrôle ont fait l'objet de la deuxième partie du travail. Ensuite, nous avons développé les différentes méthodes statistiques d'établissement des cartes de contrôle et leur utilité, surtout dans le contrôle interlaboratoires.

La comparaison des méthodes demeure l'objectif principal. L'introduction ou la maintenance d'une méthode doit tenir compte de plusieurs facteurs, notamment de la valeur de la déviation standard, de la confrontation avec la clinique et de l'étude de la technique dans les conditions pathologiques de son utilisation. La conclusion de nos observations inclut le contact absolument indispensable entre cliniciens et biologistes.

Nous avons indiqué deux projets d'amélioration du contrôle de qualité,

en décrivant le contrôle plus poussé, objectivé par les diagrammes de Youden modifiés par Tonks, ainsi que la méthode de l'écrêtage des résultats.

Enfin, nous avons exposé et commenté brièvement les différents résultats de nos méthodes de contrôle. Les techniques automatiques sont de loin les plus fiables, car les plus reproductibles ; leur couplage avec un ordinateur convenablement programmé apporte une grande sécurité.

Nous terminerons en formant des vœux pour que se développent ces techniques de contrôle de qualité qui n'ont qu'un but : assurer et garantir un meilleur service à la société.

o o o

IV ème PARTIE

BIBLIOGRAPHIE

1. OUVRAGES GENERAUX

- Contrôle de qualité des examens de laboratoire.
Journées Nationales de Biologie - Lyon 5-6-7 Novembre 1971.
AUBRY J.P. et Coll., AULAGNER G. et Coll., édés.
Simep Editions, Villeurbanne, 1972.
- Recueil des données et contrôle de qualité - Monographie.
DERRICK F. et Coll., C E F H, éd.
Dade Education, Paris, 1973.
- Clinical chemistry - Principles and technics - Deuxième Edition.
RICHARD J. et Coll.
Harper et Row, édés, Hagerstown, London, New York, 1974.
- Techniques de laboratoire.
LOISELEUR J.
Masson et Cie, édés, Paris, 1963.
- Techniques modernes de laboratoire et explorations fonctionnelles - Tome I.
HARTMANN L.
L'Expansion scientifique française, éd., Paris, 1971.
- Méthodes statistiques à l'usage des Médecins et des Biologistes.
SCHWARTZ D.
Flammarion, éd., Paris, 1974.
- Sur un contrôle de qualité régional et son intérêt.
IRISSON C.
Mémoire présenté pour la médaille d'Or de l'Internat en Pharmacie.
Laboratoire Central, Hôpital Ste. Marguerite et ASCOSUD, édés, Marseille, 1980.

2. Mémoires originaux cités dans le texte

- ALLEN J.R., EARP R., EAREL E.C. et GRUMER Jr. H.D. (1969)
Clin. Chem., 15, 1039-1044.
- AMADOR E., HSI B.D. et MASSOD M.F. (1968)
Amer. J. Clin. Pathol., 50, 369-378.
- BARNETT R.N. (1968)
Amer. J. Clin. Pathol., 50, 671-676.
- BELK W.P. et SUNDERMAN E.W. (1947)
Amer. J. Clin. Pathol., 17, 853-861.
- BERRY R.E. (1968)
Amer. J. Clin. Chem. 50, 720-722.
- BONNET A. et POZET S. (1970)
Sérums de contrôle ou sérums étalons ? Organisation et
automatisation des laboratoires.
Biologie prospective - Colloque Pont-à-Mousson, 1,
143-146.
- BROUGHTON P.M.G. et ANNAN W. (1968)
Clin. Chem. Acta, 32, 433-441.
- BUTTNER H. (1968)
Z. Klin. Chem. Klin. Biochem., 7, 89-95.
- CHUNG K.Y., SINHA R.M. et FREW J.A. (1971)
Clin. Chem., 17, 89-91.
- COPELAND B.E. (1971)
Amer. J. Clin. Pathol., 56, 1-7.
- CROWLEY L.V. et ALTON M. (1970)
Amer. J. Clin. Pathol., 53, 948-955.
- DYBKAER R. (1969)
Amer. J. Clin. Pathol., 52, 687-693.
- GILBERT R.K. (1970)
Amer. J. Clin. Pathol., 54, 463-482.

- GRANT G.H. (1961)
Ass. Clin. Pathol., 3, 30-33.
- HANQK A. et KUO J. (1968)
Clinical Chemistry, 14, 58-69.
- HANSON D.J. (1970)
Amer. J. Clin. Pathol., 54, 451-453.
- HENRY J.B., BEELER M.F. et COPELAND B.E. (1969)
Amer. J. Clin. Pathol., 52, 296-299.
- HOFFMAN R.G. et WAID M.E. (1955)
Amer. J. Clin. Pathol., 25, 585-594.
- HOFFMAN R.G. et WAID M.E. (1963)
Amer. J. Clin. Pathol., 40, 263-269.
- KLUGERMAN M.R. et BOUTWELL J.H. (1961)
Clin. Chem., 7, 185-191.
- LEVEY S. et JENNINGS E.R. (1950)
Amer. J. Clin. Pathol., 20, 1059-1066.
- LOGAN J.E. et ALLEN R.H. (1968)
Clin. Chem., 14, 437-448.
- MARYMONT J.H., CAWLEY L.P. et HOFFMAN R.G. (1968)
Amer. J. Clin. Pathol., 49, 431-436.
- MEARS T.W. et YOUNG P.S. (1968)
Amer. J. Clin. Pathol., 50, 411-421.
- MOSS D.W. (1970)
Clin. Chem. 16, 500-502.
- O'KELL R.T. et ELLIOT J.R. (1970)
Clin. Chem., 16, 161-165.
- POWELL J.B. et DJUH Y.Y. (1971)
Amer. J. Clin. Pathol., 56, 8-16.
- RADIN N. (1967)
Clin. Chem., 13, 55-76.

- SIEST G. (1970)
Organisation et automatisation des laboratoires.
Biologie prospective.
Colloque Pont-à-Mousson, 1, 169-174.
- SKENDZEL L.P. et YODEN W.J. (1969)
Amer J. Clin. Pathol., 51, 161-165.
- SPARAPANI A. et BERRY R.E. (1944)
Amer. J. Clin. Pathol., 42, 129-132.
- TONKS D.B. (1963)
Clin. Chem., 9, 217-233.
- WHITBY L.G., MITCHELL F.L. et MOSS D.W. (1967)
Adv. Clin. Chem., 10, 65-156.
- WHITEHEAD T.P. et MORRIS L.O. (1969)
Ann. Clin. Biochem., 6, 94-103.

SOMMAIRE

INTRODUCTION

1° PARTIE : Données générales sur le contrôle de qualité en chimie clinique

Chapitre I : Définitions de base	2
I - Exactitude	2
II - Précision	2
III - Autres termes à définir	5
IV - Standards et contrôles	7
Chapitre II : Comment peut se faire le contrôle ?	10
I - Utilisation de sérums de contrôle titrés	10
II - Utilisation de sérums de contrôle non titrés	10
Chapitre III : Cartes de contrôle	12
I - Graphique de LEVEY-JENNINGS (ou graphique \bar{X})	12
II - Méthode des "cumulative sum charts" ou cusum	12
III - Autres méthodes statistiques	14
IV - "Cartes de contrôle" et contrôle interlaboratoires	16
V - Contrôle statistique de la qualité des examens de laboratoire	21
Chapitre IV : Comparaison des méthodes	28
Chapitre V : Possibilités d'amélioration du contrôle de qualité	34
Chapitre VI : Conclusion	38

2° PARTIE : Sérums de contrôle

Chapitre 1 :	Généralités sur les sérums de contrôle	39
Chapitre 2 :	Quelques sérums de contrôle utilisés à l'Hôpital Nord (Marseille).....	47

3° PARTIE : Résultats de nos méthodes de
contrôle de qualité des examens

Chapitre 1 :	Généralités sur nos méthodes de contrôle	50
Chapitre 2 :	S M A II TECHNICON	55
	I - Méthodes d'analyses	55
	II - Résultats obtenus avec les sérums de contrôle utilisés	59
	III - Conclusion	60
Chapitre 3 :	Astra Beckman	64
	I - Fonctionnement et méthodologies analytiques	64
	II - Résultats expérimentaux du contrôle de qualité	67
Chapitre 4 :	Micro-analyseur centrifuge : IL.Multistat III..	70
	I - Méthodologies analytiques	70
	II - Résultats du contrôle de qualité sur le Multistat	73
Chapitre 5 :	Electrophorèse des protéines, sébia cellosystem	77
Chapitre 6 :	Méthodes manuelles	80
	I - Principes des analyses.....	80
	II - Résultats expérimentaux du contrôle de qualité	81
<u>CONCLUSION</u>	84

4° PARTIE : BIBLIOGRAPHIE

