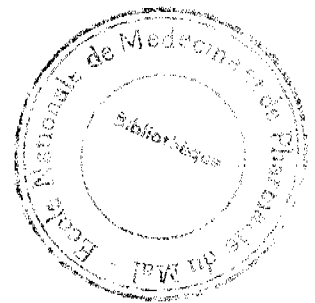


RÉPUBLIQUE DU MALI
UN PEUPLE - UN BUT - UNE FOI

ÉCOLE NATIONALE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

**THÉORIE ET MISE EN ROUTE
D'UN ANALYSEUR
DE BIOCHIMIE CLINIQUE INFORMATISÉ :
LE "QUANTACHEM"**

THÈSE



Présentée et soutenue publiquement le **Mai 1983**
devant l'ÉCOLE NATIONALE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

par

Namory KONÉ

pour obtenir le Grade de **DOCTEUR EN PHARMACIE**
(Diplôme d'État)

JURY

Président : **Professeur J. JOSSELIN**

Membres : { **Professeur F. MIRANDA**
Professeur A. AG RHALY
Docteur B. CISSE

PROFESSEURS RESIDANT A BAMAKO

Professeur Aliou BA	Ophtalmologie
Professeur Bocar SALL	Orthopédie - Traumatologie - Secourisme
Professeur Mamadou DEMBELE	Chirurgie Générale
Professeur Mohamed TOURE	Pédiatrie
Professeur Souleymane SANGARE	Pneumo-Phthisiologie
Professeur Mamadou KOUMARE	Pharmacologie - Matières Médicales
Professeur Mamadou-Lamine TRAORE	Obstétrique - Médecine Légale - Chirurgie
Professeur Aly GUINDO	Gastro-Entérologie
Professeur Abdoulaye Ag RHALY	Médecine Interne
Professeur Sidi Yaya SIMAGA	Santé Publique
Professeur Siné BAYO	Histo-Embryo-Anatomie Pathologique
Professeur Abdel Karim KOUMARE	Anatomie - Chirurgie Générale
Professeur Bréhima KOUMARE	Bactériologie
Professeur Mamadou Koréissi TOURE	Cardiologie
Professeur Yaya FOFANA	Hématologie
Professeur Philippe RANQUE	Parasitologie
Professeur Bernard DUFLO	Pathol. Méd. Thérap. Physio. Hémato.
Professeur Robert COLOMAR	Gynécologie - Obstétrique
Professeur Bouba DIARRA	Microbiologie
Professeur Salikou SANOGO	Physique
Professeur Niamanto DIARRA	Mathématiques
Professeur Oumar COULIBALY	Chimie Organique

JE DEDIE CE TRAVAIL

A MES PARENTS

Pour les multiples sacrifices que vous avez consentis pour notre existence, mes frères et moi-même. Nous vous témoignons notre gratitude la plus sincère.

A MON ENFANT

Paternellement.

A MES FRERES ET SOEURS

Pour souhaiter du courage à certains, et heureux ménage à d'autres.

A MES COUSINS ET COUSINES

Qu'ils trouvent ici l'expression de mon profond attachement.

A MES AMIS

Vous représentez pour moi un modèle d'identification et de reconnaissance. Puisse notre amitié se renforcer encore.

A TOUS LES ETUDIANTS DE L'E. N. M. P.

En leur souhaitant bonne réussite.

A MES CAMARADES DE PROMOTION

Pour leur souhaiter une heureuse carrière professionnelle.

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
1ère PARTIE - ETUDE THEORIQUE DU QUANTACHEM	
I - DESCRIPTION	8
1.1. - Définition et but	8
1.2. - Les deux parties principales	8
1.2.1. - Console chimique	8
1.2.1.1. - Disque d'échantillon (ST)	10
1.2.1.2. - Disque de test (T.T.)	10
1.2.1.3. - L'échantillonneur	10
1.2.1.4. - Les stations de réactifs	11
1.2.1.5. - Les mélangeurs	11
1.2.1.6. - La sonde de transfert	11
1.2.1.7. - L'incubateur	11
1.2.1.8. - La trappe d'évacuation des tubes de réaction	12
1.2.1.9. - Clavier des fonctions manuelles de la console chimique	12
1.2.1.10. - Stockage des réactifs	12
1.2.1.11. - Spectromètre	14
1.2.2. - La console de communication	16
1.2.2.1. - Ecran de visualisation	16
1.2.2.2. - Clavier	16
1.2.2.3. - Ordinateur	16
1.3. - Les deux parties annexes	18
1.3.1. - Lecteur de carte	18
1.3.2. - Imprimante	18
1.4. - Fonctions contrôlables par l'opérateur	18
1.5. - Fonctions contrôlées par l'appareil	19
2 - FONCTIONNEMENT DU QUANTACHEM	20
2.1. - Clavier	20
2.1.1. - Groupe I	20

1.6.3.	-	L'échantillonneur	63
1.6.4.	-	Transfert du mélange	64
1.6.5.	-	Mélange	65
1.7.	-	Précautions d'emploi	65
2	-	METHODOLOGIES CHIMIQUES DE LA MISE EN ROUTE	67
2.1.	-	Généralités	67
2.1.1.	-	Prélèvement	67
2.2.	-	Fer sérique	73
2.3.	-	Bilirubine totale	80
2.4.	-	Cholestérol enzymatique	91
2.5.	-	Triglycérides enzymatiques	99

**3ème PARTIE - ETUDE DU CONTROLE DE QUALITE DES DOSAGES BIOCHIMIQUES
EFFECTUES SUR LE QUANTACHEM**

1	-	GENERALITES SUR LES QUALITES DES DOSAGES BIOCHIMIQUES	106
1.1.	-	Introduction	106
1.2.	-	Critères d'une méthode	107
2	-	ETUDE DU CONTROLE DES DOSAGES EFFECTUES AU QUANTACHEM	113
2.1.	-	Moyens de contrôle	113
2.2.	-	Utilisation des standards dans le contrôle de qualité de la technique	114
2.2.1.	-	Les standards I et II	114
2.2.2.	-	Standards TgCl et TgCH	115
2.3.	-	Utilisation des sérums de contrôle pour l'exactitude et la précision	115
2.3.1.	-	Intérêt du contrôle en biochimie clinique	115
2.3.2.	-	Rôle du laboratoire	116
2.3.3.	-	Moyens de contrôle	117
2.3.3.1.	-	Sérums titrés	117
2.3.4.	-	Erreurs au cours des dosages	119
2.3.4.1.	-	Erreurs systématiques	120
2.3.4.2.	-	Erreurs fortuites	120
2.3.4.3.	-	Erreurs grossières	121
3	-	TRAITEMENT DES RESULTATS DE DOSAGES PRATIQUES SUR LE QUANTACHEM	122
3.1.	-	Introduction	122
3.2.	-	Contrôle de la technique à partir des standards	122
3.2.1.	-	Fer sérique	122
3.2.2.	-	Bilirubine totale	125
3.2.3.	-	Cholestérol enzymatique	128
3.2.4.	-	Triglycérides	132

3.3.	-	Contrôle de qualité à partir des sérums de contrôle	136
4	-	CORRELATION ENTRE LES RESULTATS DES DOSAGES DE «POOL» DE SERUM DE CALIBRATION DU QUANTACHEM ET D'AUTRES METHODES DE MEME PRINCIPE	152
CONCLUSION			161
BIBLIOGRAPHIE			168

INTRODUCTION

L'intégration de l'informatique et de l'automatisme dans un laboratoire de biochimie clinique a suscité beaucoup d'intérêt. Cet automatisme est réalisé de deux façons :

- . soit par des analyseurs à flux continu SMA (SMA 6/60, SMA 12/60, SMA II et SMAC),
- . soit en systèmes discontinus (par exemple le QUANTACHEM, le MULTISTAT, l'ASTRA).

1 - LES SYSTEMES S.M.A. TECHNICON (SEQUENTIAL MULTIPLE ANALYSER)

Ils sont constitués d'une chaîne d'éléments reliés entre eux qui effectuent rapidement les manipulations successives que nécessitaient auparavant les analyses manuelles. Les réactions chimiques se font dans des canalisations en verre, au sein desquelles passent des courants liquides animés d'un mouvement continu par des pompes et segmentés par des bulles d'air. Ces bulles d'air fragmentant en permanence les flux d'échantillons et de réactifs en mouvement, assurent l'intégrité de l'échantillon et évitent toute contamination.

Les échantillons à étudier constitués par le plasma, le sérum, l'urine, le LCR, sont disposés dans des godets sur le plateau du distributeur qui peut assurer l'identification automatique par lecture électronique d'une carte perforée.

A partir de l'autoanalyseur de première génération (1960), des études très poussées d'analyse multiple séquentielle, ont permis d'automatiser

un nombre de plus en plus grand de dosages pour aboutir à l'appareil SMA_{12/30} puis SMA_{12/60} qui sont de la deuxième génération.

SMA_{6/60} : six constituants mesurés simultanément sur le même échantillon.

SMA_{12/60} : douze constituants mesurés sur le même échantillon à la cadence de 60 échantillons à l'heure.

Avec le SM_{II/90} de la troisième génération qui est piloté par un ordinateur, l'analyse chimique de chaque paramètre est réalisée par une cassette analytique spécifique. Les cassettes peuvent être changées assez rapidement pour effectuer des analyses différentes. On peut choisir un programme de douze analyses parmi la vingtaine de déterminations suivantes :

- . calcium, phosphore, glucose, urée, acide urique, cholestérol, protides totaux, albumine, bilirubine totale et directe, phosphatase alcalinée, lactate déshydrogénase (LDH), transaminases, SGOT et SGPT, chlore, sodium, potassium, réserve alcaline, créatinine, créatinine phosphokinase, azote total, dioxyde de carbone (CO₂).

Les concentrations des paramètres dosés pour chaque malade sont mémorisées dans l'ordinateur et imprimées ensuite sur une feuille de réponse en double exemplaire, à la cadence de 90 échantillons par heure, soit 1080 dosages.

Dans la troisième génération des auto-analyseurs Technicon figure le SMAC. Il peut déterminer vingt paramètres biochimiques choisis parmi vingt-neuf. Il fonctionne à une cadence de 150 à 200 échantillons à l'heure sur moins de 400 microlitres de sérum. Cette rapidité a fait qu'on a implanté un mini-ordinateur qui gère la marche de l'ordinateur lui-même, à tirer ses résultats à la demande et en faire une machine auto-régulée.

2 - LES SYSTEMES DISCONTINUS

Ils effectuent les dosages paramètre par paramètre, à des cadences souvent très élevées (jusqu'à 300 échantillons par heure). Parmi ces systèmes figure le MULTISTAT (appareil centrifuge) de la Société IL, l'ASTRA de la Société BECKMAN et le QUANTACHEM de TECHNICON. Nous nous sommes plus particulièrement intéressé à ce dernier appareil dont nous décrirons le fonctionnement dans notre thèse.

Cet appareil permet de doser une trentaine de paramètres (enzymes ou substrats en cinétique ou en point final). Il permet l'analyse en grande série ou l'analyse d'urgence. Il est entièrement piloté par un ordinateur qui est composé de cinq parties :

- . les organes d'entrée permettant de faire entrer l'information dans le calculateur. Ils diffèrent selon le support de l'information transmise : lecteur de carte, le clavier par lequel entrent les informations sur un mode conversationnel, l'oscillographe cathodique (console de visualisation) ;
- . les organes de mémoires (disques magnétiques) qui ont pour but d'enregistrer, de stocker, puis de restituer les informations de tous ordres qui ont été introduites dans l'ordinateur ;
- . l'organe (ou bloc) de traitement, partie de l'appareil dans laquelle sont exécutées les instructions du programme, comportant la juxtaposition d'un certain nombre de circuits à semi-conducteurs réalisant chacun une opération élémentaire (addition, comparaison, etc.) dans un temps très bref ;
- . l'organe (ou bloc) de commande qui réalise et coordonne le fonctionnement des divers organes de l'ordinateur pour assurer l'exécution du programme ;
- . les organes de sortie de l'information : l'imprimante rapide, la console de visualisation permettant à la machine d'afficher les résultats sous forme de textes ou de graphiques.

Les techniques électroniques avancées ont réduit le temps pour tout test d'urgence en routine, les chimies individuelles, les profils cliniques.

Le QUANTACHEM offre l'automatisation complète depuis les demandes jusqu'à l'édition finale. Il permet l'analyse quantitative de 31 chimies (le glucose, l'amylase, le fer, le C.T.F.fer, le phosphore, la phosphatase alcaline, les transaminases SGOT et SGPT, le magnésium, le cholestérol, les triglycérides, la créatinine phosphokinase, la bilirubine totale, la bilirubine libre, l'urée, l'acide urique, le chlore, l'azote total, les protides totaux, les lipides totaux, l'albumine, le protozol, la lactate déshydrogénase, le sodium et potassium, la gamma glutamyl transférase, le dioxyde de carbone, le sérum cholinestérase, le HDL cholestérol, le calcium.

Il possède deux fonctions principales : l'"ATS" et le test en "BATCH".

2.1 - "ATS" SELECTION AUTOMATIQUE DES TESTS

Le concept de sélection automatique des tests est une exclusivité du MONITOR. En fait, il élimine la nécessité pour l'opérateur d'entrer manuellement l'identification du patient et la nature du test dans l'ordinateur. Le maniement de papier et les possibilités d'erreurs dans l'entrée des numéros d'identification (qui sont automatiquement enregistrés) et l'information concernant la clinique ont été réduits par un simple marquage du carton ATS (il suffit de cocher les cases au crayon).

Après que la carte ATS marquée ait été donnée à l'opérateur, elle est introduite dans le lecteur de carte. Le QUANTACHEM (KDA) à ce moment, identifie le patient par son numéro ATS, reçoit toutes les informations concernant les chimies à effectuer pour le patient, et indique à l'opérateur où il doit placer le sérum identifié dans chaque ATS sur le disque de sérum.

Le rapport final contient le numéro d'identification du patient, son

nom, le nom du docteur, la date de l'édition, l'heure et la date, la catégorie d'âge (adulte, pédiatrique, nouveau-né), le sexe, le nom de la chimie, la valeur normale (pour chaque sexe et chaque catégorie d'âge), les résultats du patient, et des commentaires sur l'aspect (lipémique, hémolysé, non solide, etc.).

2.2 - BATCH : TEST EN URGENCE

Si la carte ATS n'est pas utilisée, le QUANTACHEM peut fonctionner de la même façon qu'un analyseur classique. Alors, pour n'importe quel dosage, il va tester uniquement les godets spécifiés et il imprimera automatiquement le nom du test, la fourchette des normales, les positions de godets, et les résultats de test.

En effet, la mise en route d'un tel appareil nécessite un contrôle de qualité de la méthode, ce contrôle devant permettre d'éprouver l'exactitude, la spécificité, la précision et la reproductibilité.

L'exactitude d'une méthode est définie par la concordance entre le résultat obtenu et la valeur réelle ; la spécificité est déterminée par sa faculté de ne permettre que le dosage de la substance pour laquelle il est prévu ; la précision est la concordance des résultats d'une ou de plusieurs séries de mesures effectuées sur le même échantillon.

Premlère Partie

*

ÉTUDE THÉORIQUE
DU "QUANTACHEM"

DE LA TRADUCTION DE "AUTOMATED SYSTEMS OPERATOR'S MANUAL"

L'étude théorique du QUANTACHEM sera envisagée sous deux aspects principaux :

- . soit descriptif
- . soit fonctionnel

Cette présentation s'avère indispensable au préalable pour comprendre les utilités du fonctionnement.

ECRAN DE VISUALISATION

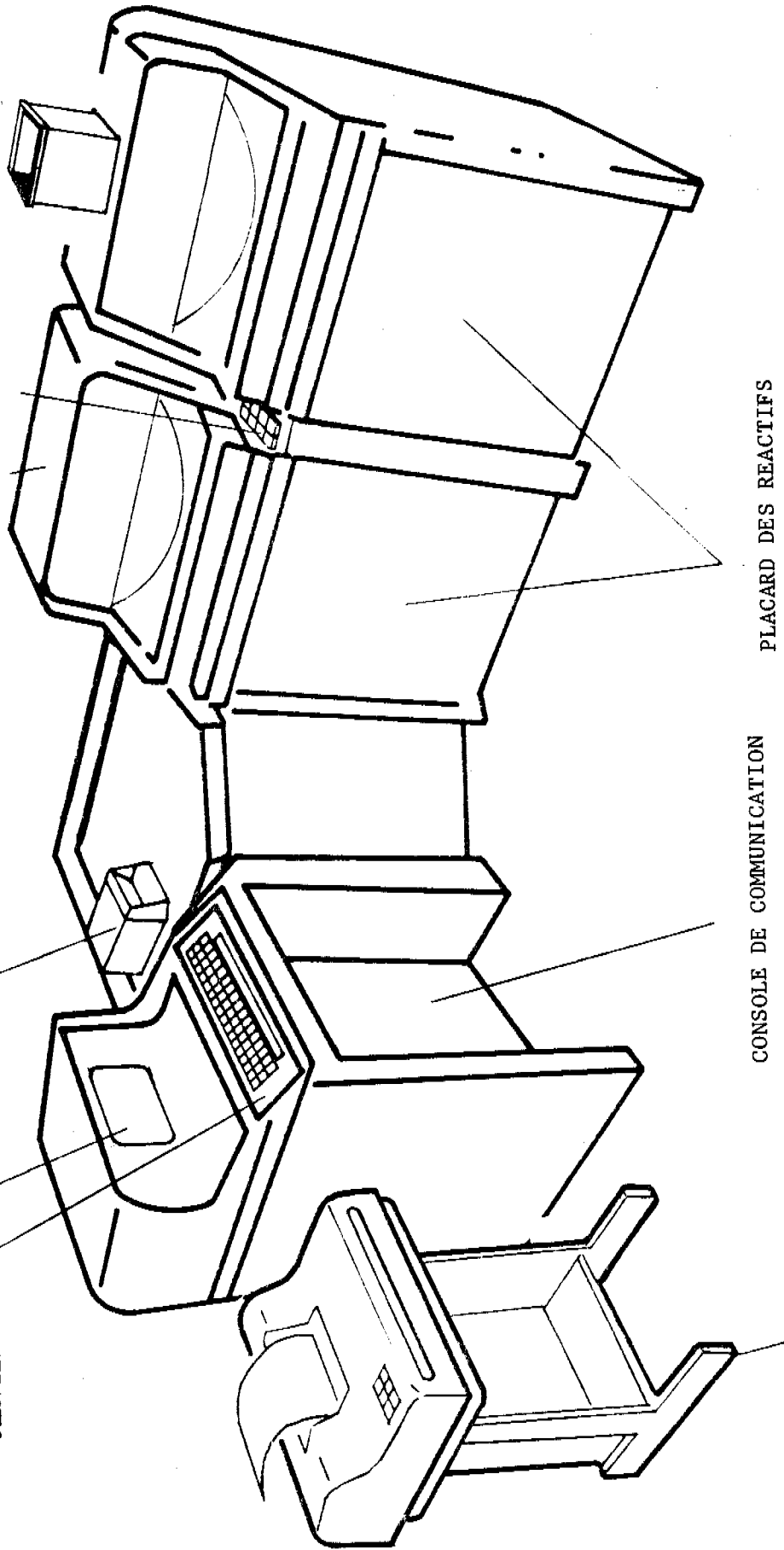
CONSOLE CHIMIQUE

PANNEAU DE CONTROLE

CHEMINEE DE
FLAMME
PHOTOMETRIQUE

LECTEUR DE CARTES

CLAVIER



CONSOLE DE COMMUNICATION

PLACARD DES REACTIFS

IMPRIMANTE

1 - DESCRIPTION

1.1. DEFINITION ET BUT

Le QUANTACHEM est un analyseur biochimique informatisé ayant pour but de fournir en médecine et dans les recherches de laboratoire d'une façon rapide et discontinue, et avec exactitude, les tests biochimiques des constituants élémentaires se trouvant dans les liquides biologiques.

L'ordinateur de l'appareil règle et contrôle toutes les fonctions mécaniques. Il effectue en plus tous les calculs mathématiques. Il effectue l'identification du malade tout en réalisant en permanence l'accumulation des données.

Cet appareil est constitué de quatre éléments dont les deux premiers nous paraissent essentiels et les deux autres annexes.

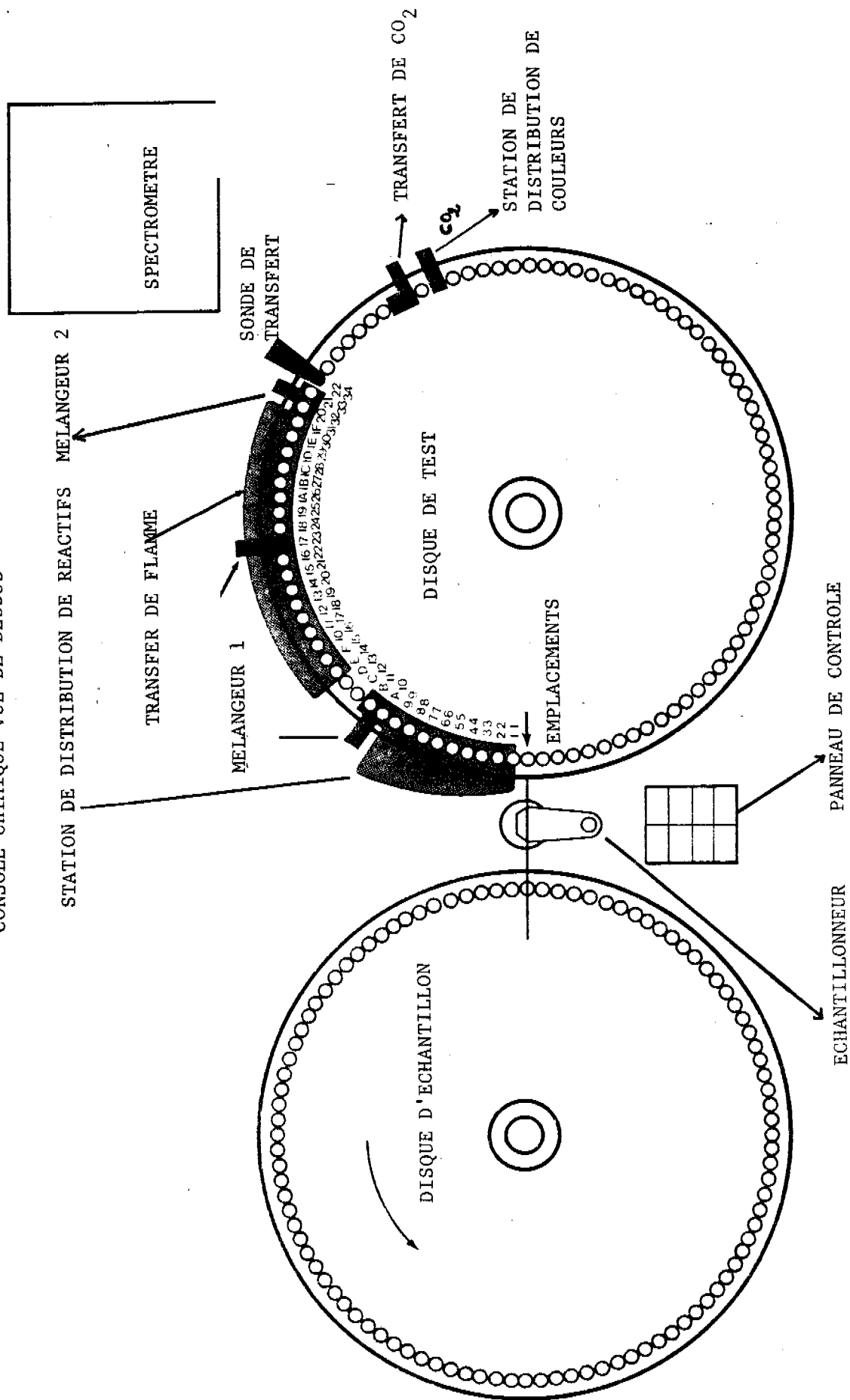
1.2. LES DEUX PARTIES PRINCIPALES

Elles regroupent les éléments suivants : la console chimique qui est l'organe effecteur et la console de communication qui permet la relation entre l'opérateur et l'appareil.

1.2.1. Console chimique

Elle effectue toutes les fonctions mécaniques telles que : l'échantil-

CONSOLE CHIMIQUE VUE DE DESSUS



tonnage, la distribution de réactif, le mélange, l'incubation et la lecture de l'absorbance. Elle permet l'emmagasinement approprié des réactifs et des liquides biologiques. Elle est constituée de plusieurs parties :

1.2.1.1. Disque d'échantillon (ST)

Il permet de disposer 100 godets d'échantillons à tester. Ces godets contiennent chacun 2 ml soit de spécimen du malade, soit de standards ou encore de sérum de contrôle.

De l'eau froide (de 10° à 14°C.) circule sous le disque. Elle permet le refroidissement constant des godets. Ceci a l'avantage de retarder l'évaporation et la dégradation des différents constituants contenus dans ces godets.

Note : Il ne faut pas utiliser l'eau désionisée qui risque d'oxyder les cuves.

1.2.1.2. Disque de test (T.T.)

Cent positions sont également disponibles pour les tubes de réaction de 9 à 12 mm. de diamètre.

L'eau froide arrivant de la cuvette placée sous le disque d'échantillon va assurer l'incubation à 37°C de la cuvette située sous le disque de test.

1.2.1.3. L'échantillonneur

Il est localisé entre le disque d'échantillon et le disque de test. Il prélève par aspiration une quantité précise d'échantillon, qu'il transfère du disque d'échantillon au disque de test.

Afin d'éviter toute contamination entre deux échantillons, après chaque transfert, l'échantillonneur est lavé à l'intérieur et à l'extérieur

par un jet d'eau, puis séché extérieurement par un flux d'air. Cette opération terminée, l'échantillonneur est prêt à réaliser le transfert du produit suivant.

1.2.1.4. Les stations de réactifs

Les réactifs arrivent à 28 stations situées au-dessus du disque de test. Tous les réactifs sont reliés à ces stations par des canalisations passant chacune par une électrovanne spécifique du réactif.

1.2.1.5. Les mélangeurs

Il existe un dispositif de deux mélangeurs localisés près des arrivées de réactifs. Le mélange est effectué par des bulles d'air qui sont formées grâce à l'admission d'air passant à travers ces mélangeurs, pendant un temps spécifique pour chaque test, suivi d'une pause de 75 millisecondes à 750 millisecondes. La grandeur et la quantité des bulles d'air sont programmables.

1.2.1.6. La sonde de transfert

Elle transfère par pressurisation le mélange réactionnel à la cellule de lecture.

1.2.1.7. L'incubateur

Il est localisé immédiatement en-dessous du disque de test. Il n'est rempli d'eau que lorsqu'il est nécessaire de contrôler la température pour une méthode de chimie. Les gammes de température sont les suivantes : la température ambiante, 32°, 37°, et 40° \pm 0,1°C.

La source d'eau circulante est le réservoir situé sur le châssis en-dessous de l'incubateur. Les changements rapides de température sont obtenus par la circulation d'eau froide du réservoir de l'incubateur, chauffé à la température désirée. Un processus de recyclage compense la perte d'eau dans le système. Tout débordement d'eau est évacué par une surverse.

1.2.1.8. La trappe d'évacuation des tubes de réaction

Elle est localisée un peu au-delà de la station de la sonde de transfert, sur le plancher de l'incubateur. Elle fonctionne par un mécanisme pneumatique (l'ouverture de cette trappe permet d'évacuer les tubes de réaction du disque de test vers une poubelle).

La commande de fonctionnement de cette trappe est :

- . soit automatique, après la lecture d'absorbance d'une chimie (il faut remarquer qu'en cas d'incubation, la trappe reste fermée). Son déblocage n'est possible qu'après évacuation de l'eau d'incubation vers son réservoir ;
- . soit manuelle.

1.2.1.9. Clavier des fonctions manuelles de la console chimique

Il comporte huit touches :

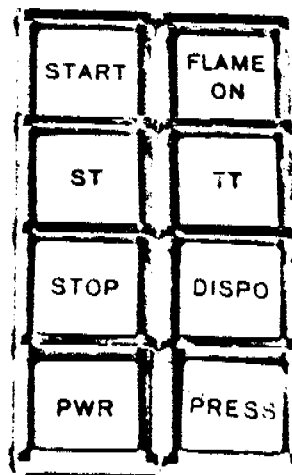
- . "Start" : actionne le démarrage des réactions chimiques ;
- . "Stop" : arrête la rotation des deux disques de la console chimique et toute chimie en cours ;
- . TT : permet l'avance manuelle du disque d'échantillon ;
- . DISPO : actionne l'ouverture de la trappe d'évacuation des tubes ;
- . PRESS : pressurise la console chimique ;
- . PWR : pour l'interrupteur marche-arrêt ;
- . Flame on : met en route le processus d'allumage du photomètre de flamme.

1.2.1.10. Stockage des réactifs

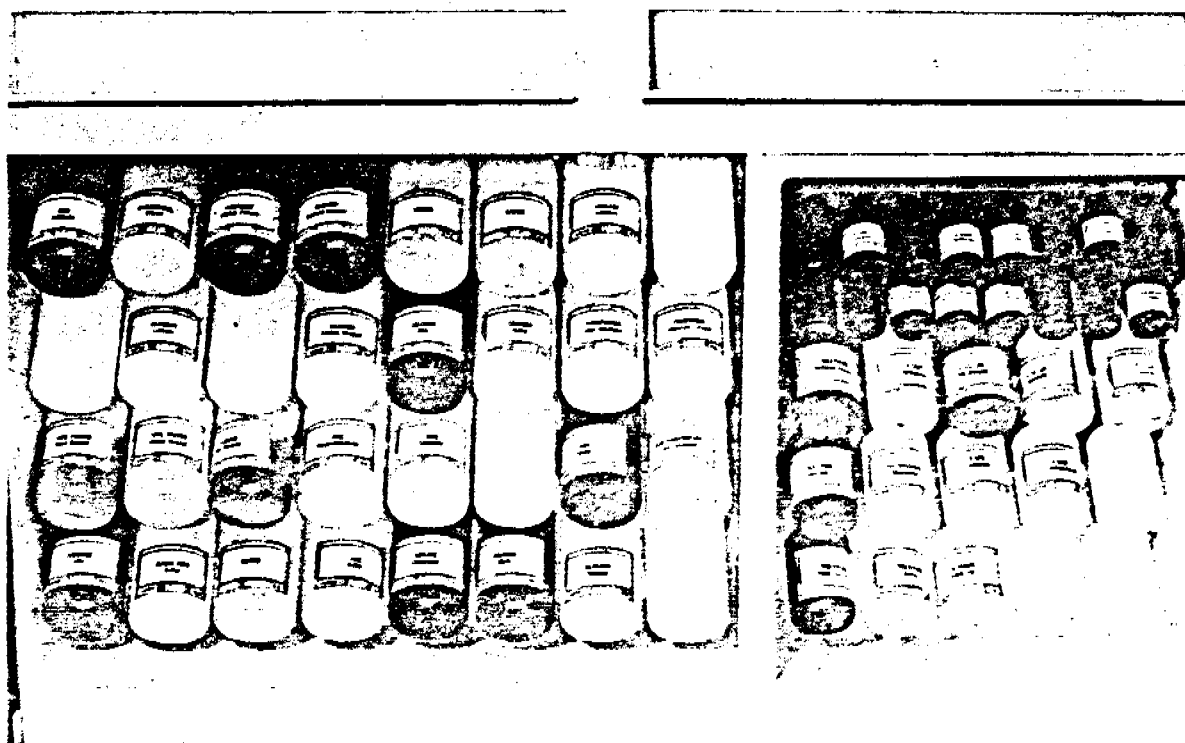
Il est réalisé dans un placard situé en avant de la console chimique, au-dessous des disques d'échantillon et de test.

Ce placard est divisé en deux compartiments, tous deux sous pression :

CLAVIER DES FONCTIONS
MANUELLES DE LA
CONSOLE CHIMIQUE



STOCKAGE DES REACTIFS



. à droite: un compartiment à température ambiante qui comprend :

- des rangées de A à D avec 32 flacons de 100 ml en polyéthylène pour les réactifs thermostables ;

. à gauche : un compartiment réfrigéré pour les réactifs thermostables ; il comprend :

- des rangées de E à F avec 16 flacons de 125 ml en verre ;
- des rangées de G à J avec 15 flacons de 500 ml en polyéthylène.

1.2.1.11. Spectromètre

1.2.1.11.1. Cellule de lecture

C'est une cuvette en quartz thermostatée par une circulation d'eau. La précision de la température est de $\pm 0,1^{\circ}\text{C}$.

1.2.1.11.2. Longueur d'onde

15 longueurs d'onde sont disponibles. La largeur moyenne de la bande passante est de 92 nm. 5 positions de filtres supplémentaires sont disponibles si cela est désiré.

1.2.1.11.3. Source de lumière

C'est une lampe halogène à filament de tungstène dont la température est contrôlée et transmise à 100% ; ceci est obtenu par oscillation de la cellule de lecture. Ce dispositif permet de faire une lecture à double faisceau, la référence étant l'air.

1.2.1.11.4. Disjoncteur électrique

Il se trouve à l'arrière de la console chimique.

1.2.1.11.5. Les régulateurs de pression d'air et jauges

. les flacons de réactif et les agitateurs (disque de

- réaction) correspondent à la jauge 1 pressurisée à 9 psi;
- . les pistons pneumatiques (échantillonneur, mélangeur, transfert) correspondent à la jauge 2 pressurisée à 20 psi ;
- . les flacons A₅ et A₆ correspondent à la jauge 3 pressurisée à 10 psi. Ces flacons contiennent de l'eau désionisée qui sert à rincer les lignes des réactifs ;
- . l'échantillonneur correspond à la jauge 4 pressurisée à 10 psi.

1.2.1.11.6. Les électrovannes de réactifs

Chaque réactif est délivré par une électrovanne à grande vitesse (62 vannes en tout, situées dans le milieu de la console chimique).

1.2.1.11.7. L'alimentation électrique

Elle comporte des transformateurs de sécurité. L'alimentation de l'ordinateur se fait en courant continu 5 volts, 12 volts.

1.2.1.11.8. La réfrigération comprend le compresseur et l'évaporateur reliés à l'incubateur permettant des échanges de température très rapide.

1.2.1.11.9. La pompe d'eau froide

Elle assure la circulation d'eau au disque d'échantillon.

1.2.1.11.10. Vannes S et D pour l'échantillonneur

Elles distribuent le volume d'échantillon programmé et avec le volume approprié de diluant.

1.2.1.11.11. TT moteur

Permet la fonction de la touche TT.

1.2.1.11.12. ST moteur

Permet la fonction de la touche ST.

1.2.1.11.13. Les capuchons protecteurs

couvrent TT et ST.

1.2.2. La console de communication

Elle est indispensable à tout ordinateur. Sur le QUANTACHEM, cette console permet :

- . non seulement d'introduire les données sélectionnées par l'utilisateur dans l'informatique de l'ordinateur, ce dernier se chargeant d'effectuer de façon automatique les opérations nécessaires ;
- . mais encore de délivrer des informations de l'ordinateur vers l'utilisateur : la machine guidant à chaque étape de la programmation la conduite à tenir par l'homme.

Il s'instaure ainsi un certain dialogue entre l'individu et l'appareil. Pour établir ce dialogue, quatre éléments sont nécessaires :

1.2.2.1. Ecran de visualisation

Il affiche les messages d'erreurs et assure la vérification de la carte d'entrée du malade. C'est un élément important car il assure visuellement la communication entre l'ordinateur et l'opérateur.

1.2.2.2. Clavier

Il permet de transmettre les informations de l'opérateur à l'ordinateur.

1.2.2.3. Ordinateur

Il règle et contrôle automatiquement toutes les fonctions de la carte de lecture, de l'imprimante et effectue aussi l'accumulation permanente

des données par l'intermédiaire de disques souples. Il effectue en plus tous les calculs mathématiques nécessaires.

Sa mémoire comporte deux éléments :

- . d'une part le noyau de mémoire : 32 K mots, mots longs : 16"bits" avec des possibilités d'accès direct à la mémoire.
- . d'autre part la mémoire périphérique : il y a deux lecteurs de disques souples qui servent à accéder et à accumuler les programmes de l'ordinateur et de l'information du patient.

Les lecteurs de disques sont étiquetés D_0 et D_1 et chacun lit respectivement les disques D_0 et D_1 .

1.2.2.3.1. Disque D_0

Il contient tous les programmes nécessaires pour faire les tests. Il mémorise les valeurs de contrôle, les valeurs cumulées de contrôle, le profil de définition, les fourchettes des normales.

1.2.2.3.2. Disque D_1

Il contient les données concernant les patients avec 640 dossiers de malades par disque et les résultats des tests (soit 32 résultats par test) accumulés par la procédure ATS.

Les disques sont faits d'un ruban magnétique encastré dans un chemisage de protection. Il s'agit d'excellents moyens d'accumulation permanente. Il y a 256 "bits" par disque.

1.2.2.4. Alimentation électronique de l'ordinateur et de l'écran.

1.3. LES DEUX PARTIES ANNEXES

Il s'agit d'envisager :

- . d'une part l'introduction facultative dans cet appareil d'un lecteur de carte ;
- . d'autre part un élément essentiel, à savoir l'imprimante.

1.3.1. Lecteur de carte

Il assure le déchiffrement électronique des informations concernant le patient et la nature du test demandé.

1.3.2. Imprimante

Elle est sous le contrôle de l'ordinateur.

Elle matérialise les résultats affichés sur l'écran de visualisation de façon partielle ou complète.

1.4. FONCTIONS CONTROLABLES PAR L'OPERATEUR

- . le nom du test (jusqu'à 32 chimies)
- . valeurs normales des adultes, hommes et femmes
- . les valeurs normales en pédiatrie
- . les valeurs normales chez les nouveaux-nés
- . le volume d'échantillon (10 à 200 μ l plus ou moins)
- . le diluant pour véhiculer l'échantillon (10 à 200 μ l plus ou moins)
- . le nombre de réactifs utilisés (jusqu'à 6 réactifs de chimie)
- . l'emplacement des réactifs
- . le volume utilisé pour chacun des réactifs (1 à 50 ml)
- . les méthodologies
- . les noms des profils et les tests inclus dans ces profils
- . les valeurs des standards
- . les valeurs de contrôle
- . les godets d'échantillons qui doivent être prélevés
- . le volume transféré

1.5. FONCTIONS CONTROLEES PAR L'APPAREIL

- . le cycle de lavage de l'échantillonneur
- . les tubes à éliminer après le dosage
- . le remplissage de l'incubateur
- . les résultats imprimés quand les demandes sont complètes
- . le maintien des réactifs labiles à 10°-14°C
- . le maintien du réservoir d'incubateur à 37°C
- . la fixation du temps de commande des fonctions
- . la purge de la cellule de lecture une fois le test achevé
- . assurer la corrélation du résultat entre le godet d'échantillon et les tubes de réaction correspondant
- . la régulation constante de l'alimentation électrique
- . la régulation de la pression
- . l'arrêt d'urgence par l'ordinateur
- . la disposition des échantillons et des tubes sur les plateaux correspondants
- . l'identification automatique des défauts:
 - a) messages des erreurs opérationnelles.
Par exemple : voir "le disjoncteur", voir "la pression d'air" ;
 - b) Messages des erreurs sur l'échantillon.
Par exemple : Init. A. HI : épuisement élevé du substrat
Init. A. LO : absorbance initiale basse.

2 - FONCTIONNEMENT DU QUANTACHEM

2.1. CLAVIER

Il se décompose en trois groupes de touches, chacun ayant une fonction précise.

2.1.1. Groupe I

Il comprend :

- . les lettres et les nombres des machines à écrire classiques;
- . les touches "X.MIT" et "NEW-LINE" qui ne sont pas utilisées.
Si on appuie sur "Rep" en même temps qu'un caractère, il y aura répétition de caractère.

2.1.2. Groupe II

Il a une importance capitale, car c'est lui qui permet la traduction des informations humaines dans le langage informatique. Il est donc indispensable de bien connaître la signification des douze touches qui le composent.

2.1.2.1. "Page"

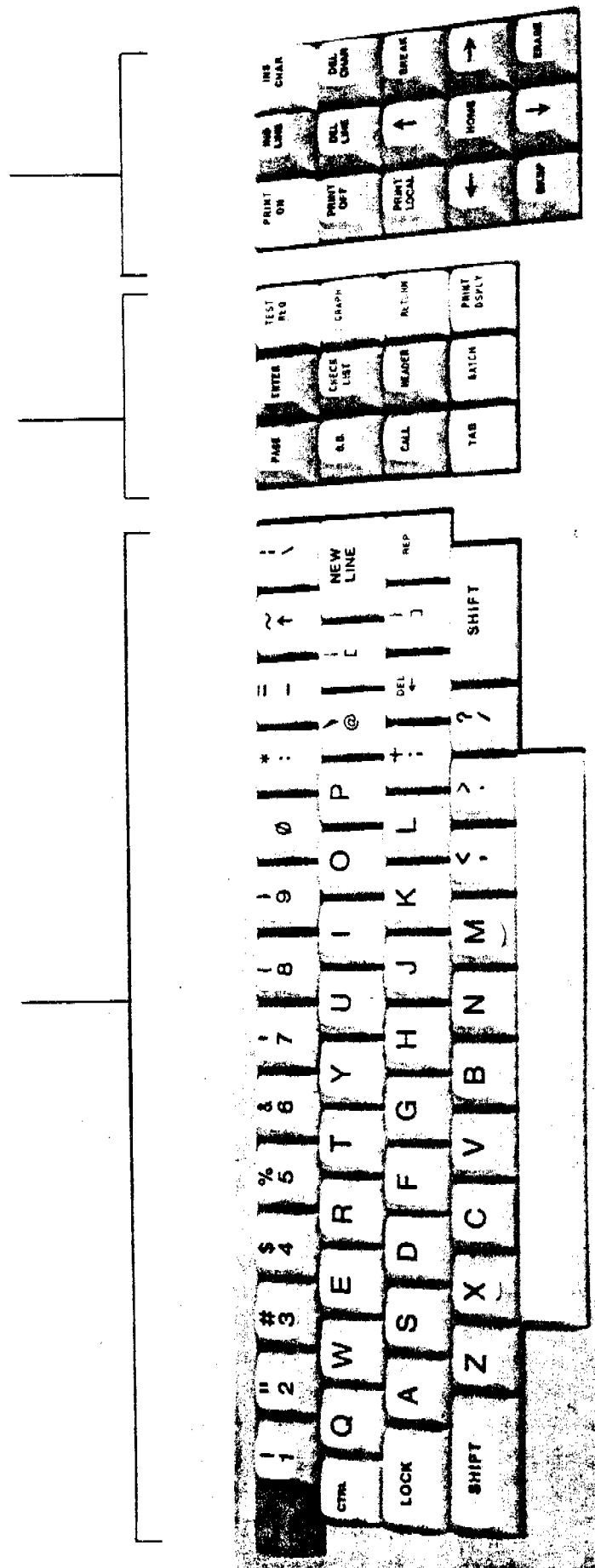
Lorsque l'information dépasse le cadre de l'écran de communication, la touche "page" permet d'afficher la suite de l'information désirée.

CLAVIER DE LA CONSOLE DE COMMUNICATION

GROUPE I

GROUPE II

GROUPE III



2.1.2.2. "Enter"

est utilisé soit pour répondre à une question posée sur l'écran : on tape la réponse appropriée et on appuie sur "Enter", soit pour accepter tous les résultats des tests en mode ATS : il permet donc de réaliser une étape essentielle avant la publication des résultats dans le mode ATS.

2.1.2.3. "Test Request"

On l'utilise pour faire la lecture des cartes d'ATS, les programmes et les contrôles de sélection en mode ATS.

2.1.2.4. "O.D."

Il affiche le tableau d'orientation.

2.1.2.5. "Check-list"

Il permet d'afficher la liste de travail.

2.1.2.6. "Graphics"

Montre les graphiques.

2.1.2.7. "Call"

On l'utilise pour rappeler le répertoire des utilités (ou fonctions) sur l'écran.

2.1.2.8. "Header"

Il permet l'accès aux listes de patients sur l'écran.

2.1.2.9. "Return"

On l'emploie pour revenir au point de départ de l'utilité choisie.

2.1.2.10. "TAB"

Il déplace le pointeur à l'information suivante.

2.1.2.11. "Batch"

Est utilisé pour travailler en séries (ou urgences).

2.1.2.12. "Print Display"

Permet d'imprimer tout ce qui figure sur l'écran.

2.1.3. Le Groupe III

Il a un rôle essentiellement rédactionnel et de mise en page.

2.1.3.1. "Print on"

Actionne l'imprimante. Elle n'est pas utilisée.

2.1.3.2. "Ins. line"

Cette touche permet d'introduire une ligne blanche au niveau du pointeur et le pointeur descend à la ligne du-dessous.

2.1.3.3. "Ins. Char"

Elle introduit un intervalle au niveau du pointeur. Le texte à droite du pointeur se déplacera chaque fois que l'on actionne la barre d'espacement.

Appuyer "In char" encore en cas de fonction défectueuse.

2.1.3.4. "Print off"

Arrête l'imprimante. Ne pas utiliser.

2.1.3.5. "Del line" :

Supprime la ligne. Peut supprimer la ligne du texte au niveau du pointeur.

2.1.3.6. "Print local"

Ne pas utiliser.

2.1.3.7. "Break"

Ne pas utiliser.

2.1.3.8. "BKSP"

Fait retourner le pointeur en arrière d'un intervalle.

2.1.3.9. Erase

Il efface toute information non validée apparue sur l'écran (CTRL doit être pressé en même temps).

- . ↑ elle déplace le pointeur vers le haut de l'écran ;
- . ← elle déplace le pointeur vers la gauche ;
- . → elle déplace le pointeur vers la droite ;
- . ↓ elle déplace le pointeur vers le bas.

2.1.3.10. "Home"

Fait remonter le pointeur vers le coin gauche de l'écran ou au niveau des zones non protégées de l'écran.

Ainsi, après l'étude indispensable du fonctionnement du clavier, il est alors possible d'analyser les modalités évolutives pour entrer les informations désirées dans le QUANTACHEM.

D'emblée, l'ordinateur aide l'utilisateur dans cette démarche grâce à son tableau d'orientation.

2.2. TABLEAU D'ORIENTATION

2.2.1. Définition et modulation du tableau

2.2.1.1 - Définition

Il est donc utilisé comme un guide général d'utilisation.
Il rappelle à l'opérateur les principales fonctions du clavier (groupe II).

Page : Appel Tableau suivant	Enter : Entrée des informations souhaitées	Test Req : (mode ATS) Chargement des cartes
OP : Tableau orientation	Check list : Pré-test liste de travail	Graph : Tableau graphique affichage
TAB : Tabulation par pointeur mobile	Batch : Façon d'opérer en mode Batch ou urgence	Print display : Impression de ce qui est sur l'écran

Positions et fonction des différentes touches

Chaque fois qu'une chimie est terminée ou après avoir appuyé sur la touche "Test-stop" ou celle d'"autoloading" (qui remet l'appareil au point de départ), le QUANTACHEM reviendra à la phase du tableau d'orientation.

2.2.1.2 - Modulations

Pour ajouter une information supplémentaire ou créer totalement un nouveau tableau d'orientation, il faut retaper sur le tableau en cours et appuyer sur "Enter".

Pour rappeler le tableau original, il faut appuyer sur "Return".
Pour rappeler le tableau créé, il faut appuyer sur "Page".

Le tableau d'orientation peut être modifié pour l'adapter à des

besoins plus particuliers. Il peut montrer la p̄emption des r̄ectifs.

Note : N'importe quel message d'erreur r̄v̄l̄ sur le tableau lorsqu'on appuie sur "Enter" apparaîtra toujours, m̄me si ce message est erron̄.

Pour supprimer ce message, il faut d̄placer le pointeur sur le message erron̄ et appuyer à plusieurs reprises sur la barre d'espacement jusqu'à ce que le message soit effac̄ ; appuyer ensuite sur "Enter".

Le tableau d'orientation indique deux grandes possibilit̄s d'utilisation de l'appareil :

2.2.2. Mode "Batch" et Mode "ATS"

Le QUANTACHEM pr̄sente deux modalit̄s distinctes d'utilisation, afin de r̄pondre avec plus de souplesse aux besoins d'un laboratoire.

- Non seulement le mode "ATS" par fiches informatiques, qui permet de r̄aliser des analyses en tr̄s grandes s̄ries dans un minimum de temps. Ce proc̄d̄ est particulīrement utile le matin pour effectuer, dans les meilleures conditions de rapidit̄ et de fiabilit̄, tous les bilans des services hospitaliers ;
- mais encore le mode "BATCH" qui r̄pond aux exigences des urgences l'apr̄s-midi et la nuit. Gr̄ce à ce syst̄me, il est possible de faire des tests au "coup par coup" avec un nombre limit̄ de malades.

Remarques :

- . le mode "BATCH" (s̄rie) est utilis̄ en urgence mais n'offre pas la possibilit̄ de regrouper les r̄sultats par patient. L'appareil pr̄l̄vera simplement les s̄rums des godets sp̄cifīs pour un test d̄termin̄ et imprimera les r̄sultats globalement. Les fourchettes des contr̄les ne sont pas "catalogūes" et les r̄sultats ne sont pas stock̄s sur le disque D₁.
- . on utilisera le mode "ATS" si l'on veut une ̄dition par patient et un stockage des informations.

2.2.2.1. Le Mode "Batch"

Si le mode "Batch" est retenu, il faut, comme l'indique le tableau d'orientation, appuyer sur "Batch".

Il apparaît alors sur l'écran le tableau "séries" ou "urgences" ou "liste de travail".

Entrer le nom du test. Appuyer sur "Enter"

00	Purge	16	SGPT uV
01	Glucose	17	Gamma GT
02	Urée	18	Amylase
03	Bilirubine directe	19	Fer
04	Chlore	20	C.T.F. Fer
05	Bilirubine Totale	21	Créatinine
06	Protéines	22	Triglycérides
07	Albumine	23	Magnésium
09	Phosphore	24	
10	Acide urique	25	Cholestérol
11	Phosphatase acide	26	α lipoprotéine (HDL)
12	Phosphatase alcaline	27	CO ₂
13	SGOT UV	28	Na
14	LDH UV	29	K
15	Créatine phosphokinase (CPK-CK)	30	Cholinestérase
		31	Protozol

Ainsi, l'ordinateur guidera la conduite à tenir :

- . taper le numéro d'identification (ID) de test et appuyer sur "Enter". On verra ainsi sur l'écran le nom du test et le nombre maximum de patients que l'on peut traiter ;
- . taper les positions des godets à tester.
 - il ne faut pas taper les positions 1 à 5 qui sont réser-

vées aux standards : le premier godet à tester sera donc en position 6 ;

- il est nécessaire de laisser un intervalle (une virgule ou un trait) entre ce numéro 6 et la position du deuxième godet ;

- ainsi, le QUANTACHEM va prélever tous les godets situés entre les deux numéros séparés par un trait.

- . Appuyer sur "Enter" : le nombre de patients apparaît ainsi que le nombre de tubes à charger sur le plateau de test.

- . Appuyer sur "Pré-test", l'écran indique alors les positions de godets définies pour les standards ainsi que le type de standards nécessaires pour le test donné. Il rappelle le nombre de godets de patients et le nombre de tubes qu'il faut mettre sur le disque test.

- . Il suffit alors d'appuyer sur le bouton "Start" de la console chimique pour faire démarrer le test.

S'il est important de disposer de mode "Batch" très souple pour les urgences, il est capital pour un laboratoire de Biochimie d'un grand hôpital, de disposer de méthodes de sélection automatique des tests, telles que le système ATS pour le QUANTACHEM.

2.2.2.2. Le système "ATS"

Il est indiqué par le tableau d'orientation : il suffit d'appuyer sur "Test Request" (changement de cartes). Il apparaît alors sur l'écran la liste de travail.

- . La liste de travail en mode ATS

Elle comporte la même information que celle du mode "Batch" mais

en plus, elle indique la liste des tests programmés. La flèche indique le test à effectuer lorsqu'on appuie sur "start".

Si on désire démarrer sur un autre test que celui indiqué par la flèche, il faut : appuyer sur "page" pour que la flèche se déplace vers le bas sur la liste, et appuyer sur "Enter" pour que la flèche remonte sur la liste.

Ces fonctions en mode ATS ne s'appliquent que sur la liste de travail. S'il n'y a pas de symbole à gauche du nom de la chimie, cela signifie qu'elle n'a pas été faite. Par contre, lorsqu'on voit un signe (+) à sa gauche, c'est qu'elle a été effectuée, mais la validation des données n'a pas été faite, ainsi on ne retrouvera pas ces résultats stockés dans les fichiers "patients".

Si les données ne sont pas validées ou si au moins un résultat est rejeté, ou qu'une carte ATS comportant cette chimie est introduite après la validation, il va apparaître un astérisque (*) à gauche de la chimie. Ce symbole signifie que le test doit être répété. Lorsqu'on recommence une chimie désignée par un astérisque, le QUANTACHEM va prélever uniquement le tube qui a été rejeté ou le tube ajouté en cours de l'opération, ainsi que les contrôles.

Si les résultats sont acceptés, la liste apparaîtra avec la lettre A sur la gauche d'une chimie. Si toutes les chimies sont précédées de la lettre A, le tableau d'orientation réapparaît sur l'écran.

Si "Enter" est abaissé à la fin d'un test ATS et si les résultats sont acceptés, l'écran revient à la liste de travail.

A la fin du test, la flèche indiquant le test en cours va se déplacer automatiquement vers le prochain test.

La touche "Check-list" doit être abaissée après que tous les tubes aient été placés et que le disque de test soit retourné à la position de départ.

Remarques :

- a) - Le bouton "Check list" permet de connaître l'état du test au moment où l'information arrive au disque.
- b) - Un ATS en cours peut être interrompu à n'importe quel moment pour faire un mode "Batch", il suffit simplement d'appuyer "Batch" et de procéder comme d'habitude. Lorsque ce test prend fin, l'écran affiche à nouveau la liste de test ATS.
- c) - Suppression du test en cours :
Pour supprimer entièrement un test d'ATS programmé, il faut déplacer la flèche vers le test que vous désirez supprimer, et appuyer sur "Return". La liste affichée sera la liste suivante.

Si un patient a déjà eu une valeur introduite dans le disque D₁ pour ce test, elle est aussi supprimée. Ce test ne va pas apparaître sur la feuille réponse à moins qu'elle n'ait été demandée dans un profil comportant plusieurs test, mais sans aucun résultat.

Lorsque la procédure de suppression est terminée, la flèche va indiquer le test suivant. Le test supprimé sera indiqué par la lettre A pour montrer que tous les résultats ont été acquis.

Note

Cette procédure va supprimer n'importe quel test pour tous les patients pour lesquels ce test avait demandé. Si on souhaite supprimer un test pour quelques patients, il faut utiliser la touche "test request".

2.3. La disposition des tubes

En appuyant sur le bouton "Start" le QUANTACHEM va distribuer les échantillons et les réactifs dans les tubes appropriés comme suit :

- A la fin de chaque test, deux tubes de rinçage sont remplis d'eau désionisée. Ils servent à rincer les sondes des mélangeurs. L'eau est transférée à la cellule de lecture qui reste pleine entre deux tests.
- Lorsqu'on fait une chimie avec blanc réactif, à chaque essai il y a quatre tubes de lavage, quatre tubes de standard et enfin deux tubes de rinçage. Par conséquent, sur un maximum de 99 tubes, 10 sont réservés pour autre chose que des patients et des contrôles. Donc, le nombre maximum de patients et de contrôles pouvant être effectués dans toute chimie avec blanc est de 89.
- De même, le nombre maximum de spécimens pouvant être traités pour une chimie avec un blanc sérum est de 44.
- Une réaction en cinétique peut traiter 90 spécimens.
- Une chimie de sodium plus potassium 87.

TUBE TEST	BLANC REACTIF	BLANC SERUM	CINETIQUE
1	Lavage 1	Lavage 1	Lavage 1
2	Lavage 2	Lavage 2	Lavage 2
3	Lavage 3	Lavage 3	Lavage 3
4	Lavage 4	Lavage 4	Lavage 4
5	Standard bas	Blanc	Standard
6	Standard bas	Test } → Standard bas	Standard
7	Standard haut	Blanc	Standard
8	Standard haut	Test } → Standard haut	1er spécimen
9	1er spécimen	Blanc	2ème spécimen
10	2ème spécimen	Test } → 1er spécimen	3ème spécimen
11	3ème spécimen	Blanc	4ème spécimen
12	4ème spécimen	Test } → 2ème spécimen	5ème spécimen
↓	↓	↓	↓
**	Rinçage	Rinçage	Rinçage
**	Rinçage	Rinçage	Rinçage

Les tubes réactionnels étant disposés correctement comme l'indique l'ordinateur, la chimie peut être lancée.

Dès que le test commence, un graphique apparaît sur l'écran de visualisation (au début il s'agit des axes de coordonnées et du nom de la chimie).

2.4. LE GRAPHE

2.4.1. Généralités

- . Un graphique pour chaque chimie va apparaître au début du test. Aussitôt que les résultats sont calculés, ils vont apparaître sur le graphe à côté des numéros de godets.

Les valeurs de patient qui tombent en dehors de la fourchette des normales de l'adulte homme seront mises entre crochets et "clignoteront".

- . En appuyant sur "graph", il apparaîtra toujours le test en cours. Si aucun test ne se déroule, c'est le dernier test effectué qui apparaîtra. Lorsqu'aucun test n'a été effectué depuis la mise en route de l'appareil, l'écran reste vide de résultats.

Le graphe est un élément important de l'analyseur. En effet, il permet de contrôler immédiatement le bon déroulement du test en cours.

2.4.2. Deux cas spécifiques sont à envisager

Nous aborderons donc :

- dans un premier temps, les informations délivrées par le graphe

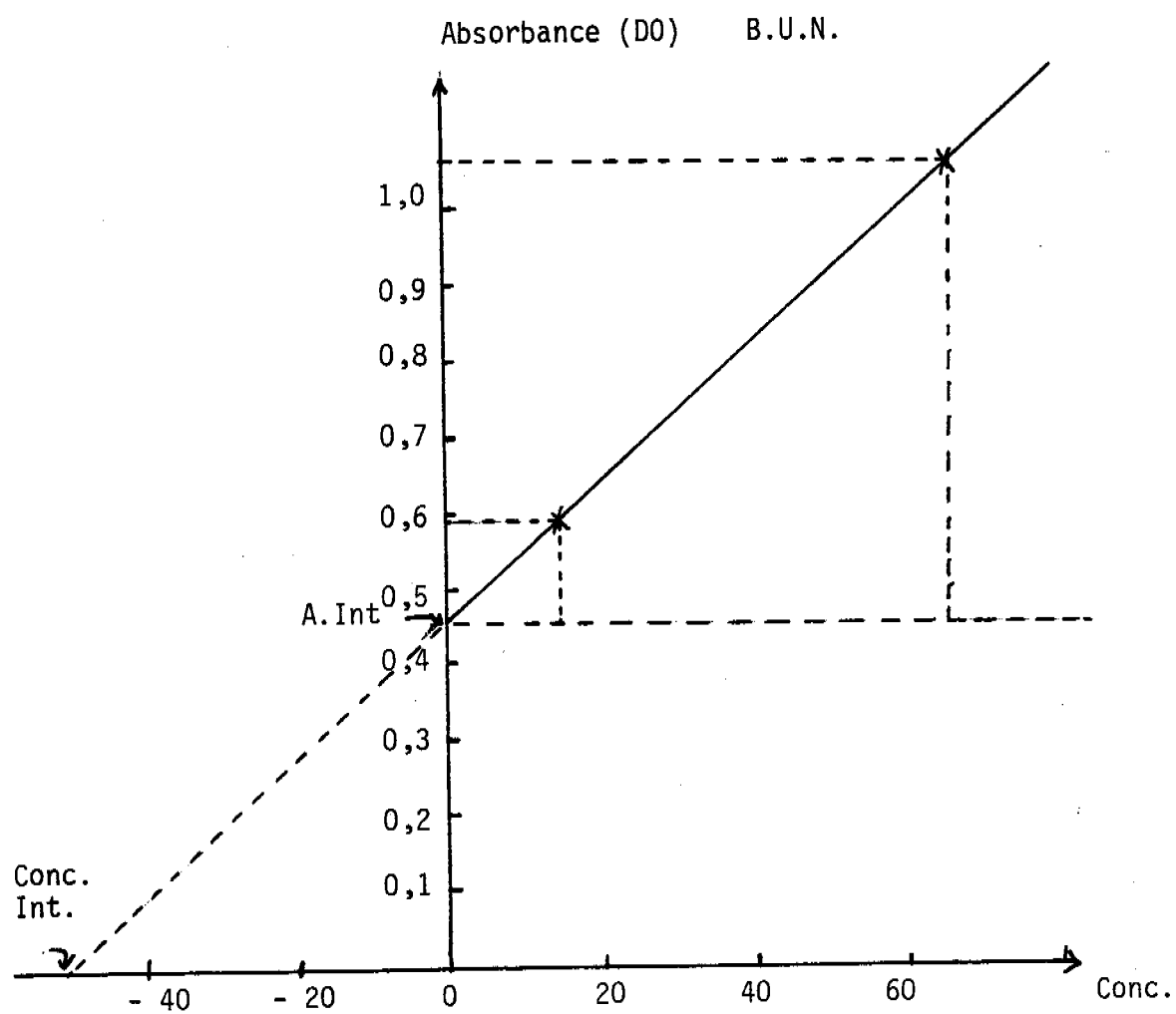


FIGURE N° 1

Graphique d'une réaction en point final

lors des réactions en point final ;

→ dans un deuxième temps, les informations délivrées par le graphe lors des réactions cinétiques.

2.4.2.1. Les graphiques d'une réaction en point final donnent les informations suivantes :

→ si les standards étaient tracés sur une feuille millimétrée, sa courbe apparaîtrait comme l'indique la figure n°1 .

→ Seule la portion du graphe située au-dessus de l'intersection de la concentration avec l'axe des absorbances va apparaître sur l'écran. Les graphiques des réactions en point final comportent les concentrations déduites des absorbances pour tous les spécimens.

2.4.2.1.1. Les standards : leurs noms, les valeurs attribuées, les positions des tubes

Les standards sont signalés sur le graphe avec un "x".

Dans l'angle supérieur gauche de l'écran apparaissent les positions des godets de standard avec le signe "x" et l'absorbance correspondante.

. Cas particulier : lorsqu'une méthodologie avec blanc sérum est en cours, l'absorbance calculée est l'absorbance du tube test moins celle du tube témoin.

2.4.2.1.2. Les contrôles

En procédure ATS, les contrôles choisis pour une chimie vont être affichés sur le graphe avec leur fourchette de valeurs et leurs positions respectives. Les contrôles sont marqués sur le graphe avec un astérisque et ils vont apparaître sur la gauche avec un astérisque.

Les valeurs du contrôle seront encadrées et clignoteront lorsqu'elles tombent en dehors de leur fourchette.

Note

Si la procédure ATS est utilisée avec plusieurs contrôles, les noms des contrôles et leur limite d'acceptabilité sont donnés sous les standards.

2.4.2.1.3. Absorbance des tubes de lavage

Pour toutes les chimies, avant que les sérums (contrôle ou patients) ne soient prélevés, quatre tubes de lavage sont utilisés pour remplir de réactif frais les lignes de distribution. L'absorbance de chaque tube est donnée.

Les tubes de lavage 1 à 3 sont utilisés pour purger les lignes des quantités de réactifs supérieures à celles nécessaires dans le test.

Seul le tube 4 reflète l'absorbance du réactif utilisé dans une chimie sans témoin.

Les tubes de lavage 3 et 4 (blanc et test) représentent l'absorbance des réactifs utilisés dans une chimie sans témoin.

2.4.2.1.4. La pente

C'est la concentration du standard haut moins la concentration du standard bas divisée par l'absorbance du standard haut moins celle du standard bas. Une autre manière de calculer la pente : c'est la concentration du constituant nécessaire pour produire un changement d'absorbance d'une unité.

Au cours d'un test utilisant trois standards, la pente fournie est calculée entre le premier et le second standard. Celle qui est calculée entre le deuxième et le troisième est donnée si on actionne le bouton "graph" à la fin du test. Cette dernière pente va apparaître

à la place occupée auparavant par le premier tube de lavage.

2.4.2.1.5. "A. INT"

C'est le point d'intersection entre l'axe des absorbances et la courbe des standards. Elle correspond au blanc réactif.

2.4.3.2.1.6. "CON.INT"

C'est le point de rencontre entre l'axe des concentration et la courbe des standards.

2.4.3.2.1.7. "MN NORM"

C'est la moyenne des normales "patients adultes hommes".

2.4.3.2.1.8. "STD DEV"

Elle est affichée lorsque des différences d'absorption sont trouvées pour le standard. Elle représente l'erreur commise sur l'estimation du standard. Elle apparaît uniquement dans les tests utilisant la régression linéaire des résultats pour le calcul (en cinétique, le "STD DEV" sera expliqué dans le chapitre suivant).

2.4.2.1.9. Les messages d'erreurs qui apparaissent juste sous le graphe

Lorsque les erreurs commises s'appliquent à un spécimen particulier, un code d'erreur apparaît à côté du numéro approprié de godet et la signification va apparaître sous le graphe.

D'autres messages d'erreurs à l'intérieur d'un même essai peuvent également apparaître sur d'autres positions de godets. Le nouveau message d'erreur va apparaître sous le graphe là où se trouvait le précédent message. Tous les messages d'erreurs et leurs codes peuvent être visualisés individuellement en abaissant la touche "return" pendant que le graphe est sur l'écran.

Exemple de graphe pouvant apparaître :

Messages sur les tubes de lavage et les tubes de standard ;

Variation d'absorbance entre WT_3 et WT_4 ;

Absorbance standard calculée à partir de 3 tubes de réaction ;

Valeurs de standard rejetées ;

Erreur de réglage du spectro ;

Erreur de l'absorbance du standard ;

Ainsi, comme il vient d'être fait pour les réactions en point final, il convient d'analyser les informations transmises par le graphe au cours des réactions cinétiques.

2.4.2.2. Le graphe des réactions en cinétique

Les chimies cinétiques vont présenter un graphe différent de celui des chimies en point final. Dans une procédure de dosage d'enzyme avec standardisation, un sérum standard sera utilisé dans trois tubes. Les réactifs sont ajoutés comme d'habitude.

L'absorbance des tubes 3 et 4 est lue en mode cinétique et le changement moyen d'absorbance de chaque tube de lavage est appelé "creep".

Les trois tubes de standard sont également transférés et les changements de leur absorbance respective sont définis et lus cinétiquement de même que les moyennes sont effectuées. La variation moyenne d'absorbance du standard moins la moyenne du "creep" est également donnée comme le changement d'absorbance de ce standard.

Les changements d'absorbance du contrôle et des tubes de spécimen sont également diminués du "creep". La variation d'absorbance ainsi corrigée est comparée au standard connu et la valeur calculée du constituant est aussi indiquée à côté du numéro de godet.

Tous les spécimens apparaîtront sur l'écran sous forme d'un carré (absorbance en fonction du temps). Les contrôles, les valeurs de patient, le tube 4, les messages d'erreurs et "MN NORM" sont donnés comme dans les chimies en point final.

Quelques caractéristiques visualisées sur un graphe de cinétique différent d'un graphe de chimie en point final.

2.4.2.2.1. Standards

La valeur de l'absorbance correspondant à un godet de standard est la moyenne des variations observées sur trois tubes de standards diminuées du "creep".

Dans quelques cas, le QUANTACHEM (KDA) peut se baser sur la variation de l'absorbance du standard observée sur deux courbes plutôt que trois. Un ou deux des trois standards peuvent être rejetés lorsque la courbe de réaction ou cinétique observée ne satisfait pas les exigences de vérification d'erreur du KDA. Le changement d'absorbance du standard est alors calculé à partir d'une ou deux courbes restantes.

2.4.2.2. Absorbance du tube de lavage

Les absorbances des quatre tubes de lavage sont données à la fin du test de standardisation. Les valeurs des tubes de lavage 1,2,3 sont inscrites à la fin de la courbe du premier patient ainsi que "STD DEV", la moyenne, et la "CV" respectivement. Ces nombres vont changer pour chaque courbe.

2.4.2.2.3. Déviatiion du standard

Elle va être fournie pour chaque courbe de patient. Elle est articulée pour les changements d'absorbance entre les lectures de chaque courbe. Les courbes très proches d'une droite vont avoir une faible déviation standard. Les courbes trop accentuées ou qui présentent une dispersion

des lectures vont avoir une déviation élevée.

Note

Comme les déviations standard sont trop basses, elles sont multipliées par 1000 avant d'être affichées sur l'écran.

2.4.2.2.4. La moyenne

Les changements moyens d'absorbance entre les lectures pour chaque courbe sont également multipliés par 1000.

2.4.2.2.5. CV

C'est le coefficient de variation des changements d'absorbance entre les lectures de chaque courbe exprimé en pourcentage.

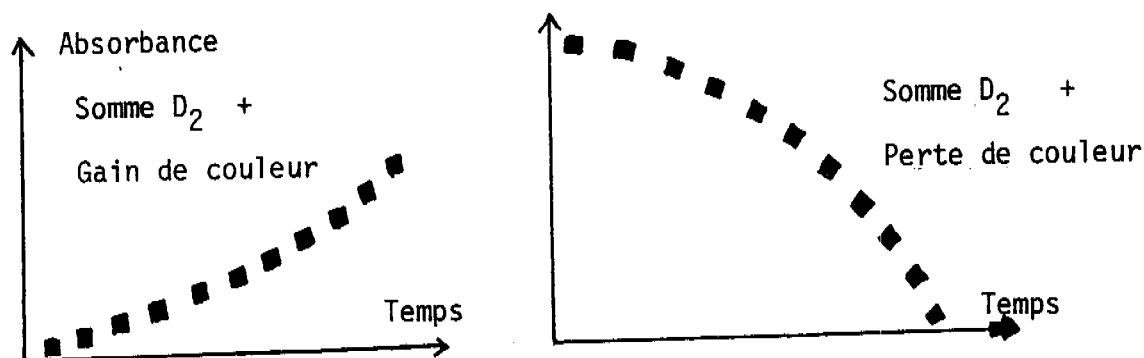
2.4.2.2.6. "SDLMT" (limite de déviation du standard)

Elle est basée sur la moyenne des déviations de standard du patient. Elle est inscrite multipliée par un facteur 5 ; il n'est pas envisageable que les courbes de patient présentent des déviations standard aussi basses que les courbes des standards et c'est pourquoi le KDA multiplie les déviations de tous les standards par 5. Toute déviation standard de patient qui dépasse la limite de déviation standard sera affichée avec le message d'erreur "H" et clignotera.

2.4.2.2.7. "SUM D₂" (somme D₂)

La somme des dérivés secondes (x 1000) sera affichée après chaque courbe. Une parfaite ligne droite aura une somme D₂ de 0 indiquant une vitesse constante. Plus la courbe est accentuée, plus la somme D₂ sera éloignée de 0. Une courbe cinétique présentant une vitesse de coloration ou de décoloration croissante présentera une somme D₂ positive.

Quand une vitesse est croissante (\nearrow), la somme D_2 est positive



Quand une vitesse est décroissante (\searrow), la somme D_2 est négative

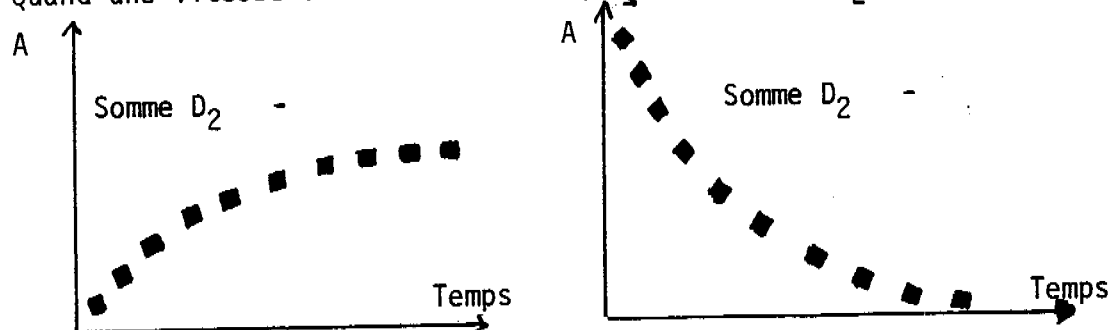


FIGURE 2

2.4.2.2.8. "Creep"

C'est la variation moyenne de l'absorbance des tubes de lavage 3 et 4. Elle est retranchée de tous les changements d'absorbance observés pour toutes les courbes (standards et patients). Elle est aussi multipliée par 1000 à des fins d'affichages seulement.

2.4.2.2.9. Somme D_1

Elle permet un contrôle immédiat de la qualité de la réaction en cours. La somme de la première dérivation est uniquement affichée si la touche "graph" est enfoncée à la fin du test cinétique. Elle va apparaître trois fois sous le graphe à la place de STD DEV, "AVERAGE et CV".

Les trois sommes D_1 représentent respectivement la variation totale de l'absorbance des premières, deuxième et troisième courbe de standard avant que le "creep" soit soustrait. Lorsqu'une courbe de standard est

rejetée, sa somme D_1 sera 0 et elle ne sera pas prise en compte dans le calcul de la variation de la moyenne de l'absorbance pour ce standard. Si le standard n'est pas adéquat pour trois échantillonnages, la résultante de la somme D_1 de ces tubes insuffisamment alimentés en sérum sera par conséquent basse.

Si la variation moyenne de l'absorbance du standard est abaissée par toute erreur, ceci a pour conséquence l'expression d'activités anormalement élevées pour les sérums de contrôle comme pour les patients.

2.4.2.2.10 Messages d'erreurs cinétiques

Message :

A	INIT A. HI SUBST EXHAUSTION :	Epuisement du substrat
B	INIT A. LO EXCESS LAG PHASE :	Réaction démarre lentement
C	INIT A. HI EXCESS LAG PHASE :	Réaction démarre trop vite
D	INIT A LO SUBST. EXHAUSTION :	Faible consommation du substrat
E	## GOOD PTS < % Total Limit :	Peu de points dans les limites
F	SUM D_2 > LIMIT, CURVE CONCAVE:	
G	SUM D_2 < LIMIT, CURVE CONVEX :	
H	OVER STD DEV LIMIT	Supérieur à la limite de la déviation standard.

Exemples de ce qui peut apparaître sur l'écran :

 WT₃ message "E" : Points corrects < en pourcentage à la limite totale

WT₄ message E

STD tube 1 : message "A"

STD tube 1 : message "B"

STD tube 1 : message "C"

STD tube 1 : message "D"

STD tube 1 : message "E"

STD tube 1 : message "F"

STD tube 1 : message "G"

STD tube 2 : les messages A à G vont apparaître comme le tube 1 ci-dessus.

STD tube 3 : les messages A à G vont apparaître comme le tube ci-dessus.

3 - LE REPERTOIRE DES UTILITES

Pour consulter le répertoire des utilités, il faut appuyer sur la touche "Call".

Ensuite, taper le numéro souhaité et appuyer encore sur la touche "Call" (la touche "Call" n'est utilisée que dans ces deux cas).

Il apparaît alors sur l'écran :

LE DICTIONNAIRE DES UTILITES

Fichiers des paramètres d'utilisation

- 11 Définition des tests
- 12 Définition des profils
- 13 Normale des calculs
- 14 Fichier contrôle
- 15 Fichier étalons
- 16 Fichier des normales

Accès des informations

- 21 Liste de travail
- 22 Validation
- 23 Accès à la feuille de réponse
- 24 Résultats cumulés des contrôles
- 25 Effacement du Disque D₁

Fichier opérateur

- 01 Séries ou urgences
- 02 Opérations claviers
- 03 Entrée demandes
- 04 Heure et date
- 05 Ordre de réalisation
- 06 Vidange de l'incubateur

Pour choisir l'utilité il faut entrer le numéro correspondant et appuyer "call"

3.1. L'UTILITE 01 : SERIES OU URGENCES

Elle possède sa propre touche car elle est utilisée fréquemment. Sa fonction a déjà été envisagée en mode "batch". Elle permet de sélectionner les tests désirés.

3.2. L'UTILITE 02

Elle permet à l'opérateur de vérifier et modifier certains paramètres qui sont utilisés dans les tests. Des modifications peuvent être faites si c'est nécessaire, l'ordinateur dicte la marche à suivre.

- . Entrer Test ID : Appuyer "Enter" pour sélectionner le test concerné.
- . Entrer le code : Appuyer "Enter" pour préciser la fonction à modifier.

Il est possible alors de changer de paramètre ; appuyer à nouveau sur "Enter".

EXEMPLE : BILIRUBINE TOTALE

TEST ID= 5		CODE=TRANSFERT PARAMETRE : 1,4		
FONCTION	CODE			
Mélangeur I	M ₁			
Mélangeur II	M ₂			
Transfert de CO	TC			
Transfert de flamme	TF			
Transfert de spectre	TR			
Calculs arithmétiques	AR			
Cycle de prélèvement	SC	1,2 seconde		
Purge prélèvement	SP	250 volumes échantillon/100 volumes diluant		
Réactif I	R ₁	0,2 sec.	N° valve 56	N° station 04
Réactif II	R ₂	0,4 sec.	N° valve 08	N° station 09
Réactif III	R ₃	1,2 sec.	N° valve 57	N° station 09
Réactif IV	R ₄	0,5 sec.	N° valve 16	N° station 09
Réactif V	R ₅	2 sec.	N° valve 08	N° station 09
Réactif VI	R ₆	1,5 sec.	N° valve 16	N° station 09

- a) taper l'utilité 02 puis appuyer sur "Call".
- b) taper le numéro d'identification du Test (Test ID) 5, puis appuyer sur "Enter".
- c) Entrer le code de la fonction ("transfertparamètre") et appuyer sur "Enter". On peut alors changer le paramètre.

Pour vérifier la validité de ces modifications :

- . les mélangeurs 1 et 2, le transfert de CO₂ et le transfert de flamme n'agiront que s'ils sont sélectionnés pour ce test spécifique (TID). En appuyant une deuxième fois sur "Enter", les mélangeurs vont s'arrêter.
 - . s'assurer si une vanne est télécommandée, que le réactif ne coule pas dans le bain-marie, ou si le cycle de distribution de l'échantillon ou le cycle de transfert sont en cours, qu'il y a un godet ou un tube en place.
- d) Effectuer la modification désirée et appuyer sur "Enter".

3.3 L'UTILITE 3 : ENTREE DES DEMANDES (CHARGEMENT DES CARTES)

- . L'utilité 3 possède sa propre touche à cause de ses fréquentes utilisations "Test Request".
- . Elle est utilisée pour sélectionner les contrôles et les tests demandés dans l'ATS.

Voici deux exemples de ce qui peut s'afficher sur l'écran après avoir appuyé sur Test "Request" :

01 H ₂ O	01 H ₂ O
02 STDZ-1 Places disponibles :	02 STDZ-1 Places disponibles :
03 STDZ II Disques 91 positions	03 STDZ II Disque 87

04	STDZ NE	Fichier 161 patients	04	STDZ-NE	Fichier 157 patients
05	STDZ EE		05	STDZ EE	
			06	01	
			07	01	Appuyer sur "Pré-test"
			21	04	pour voir l'ATS en cours
			22	04	

3.3.1. En appuyant sur "Test-Req", l'affichage précédent va apparaître lorsqu'une procédure d'ATS n'a pas été programmée. Il affichera les cinq premiers godets et les standards habituellement positionnés, ainsi que le nombre des positions disponibles pour les malades, les contrôles et le nombre de places dans le fichier du disque D_1 .

Il faut s'assurer que le nombre de places dans les fichiers est suffisant pour l'ATS en cours. S'il reste peu de places disponibles, soit on efface le disque D_1 par l'utilité 25, soit on insère un nouveau disque.

3.3.2. Les valeurs des contrôles doivent être introduites par l'utilité 14 avant leur utilisation en "ATS". Chaque contrôle est enregistré en tapant la position de godet correspondante et le numéro de contrôle donné par l'utilité 14, puis appuyer sur "Enter".

N'importe quelle position de godet de 6 à 96 sera précisée. Les premières positions sont réservées aux standards. Ces positions en mode ATS seront les mêmes au cours de toutes les chimies pour lesquelles une fourchette a été définie par l'utilité 14.

Il faut faire entrer tous les contrôles de la même façon en utilisant la touche "Enter" après enregistrement de chaque valeur de contrôle. Il est préférable que le premier et le dernier échantillon soient un contrôle, que ce soit en mode "Batch" ou "ATS".

Il est préférable de laisser quelques places vides entre le dernier godet du patient et les derniers contrôles pour rajouter éventuellement

des échantillons. L'écran doit maintenant afficher les standards 1 à 5 et seulement le numéro ID de contrôle attribué aux godets sélectionnés. Ceci n'est qu'un exemple. Les contrôles choisis et les positions des godets peuvent varier. Tous les contrôles doivent être introduits avant les spécimens.

Si le nombre maximum de patients pour un essai est dépassé, le QUANTA-CHEM le programmera en deux essais séparés. Le premier essai prélèvera les standards, quant aux contrôles, ils seront prélevés dans les mêmes positions que précédemment.

Ceci est appelé double programmation. Ce cas se présente très souvent avec les dosages de bilirubine et de chlorure car ce sont des chimies avec témoin. Ceci ne fonctionne bien que si tous les contrôles sont entrés avant les échantillons.

Nous allons voir à travers quelques exemple sous forme de tableau , le nombre d'échantillons programmables (contrôles compris) selon ces méthodes :

M O D E S	DOUBLE PROGRAMMATION	TRIPLE PROGRAMMATION
Cinétique	90 échantillons	-
Blanc réactif	89 échantillons	-
Blanc sérum	44 échantillons	88
Chlorure	42 échantillons	84
CO	40 échantillons	80
Photomètre de flamme	87 échantillons	-

Tous les contrôles programmés seront pris en compte dans chaque programmation ultérieure.

3.3.3. Après l'introduction des contrôles, on appuie sur "Test Request" pour avoir une visualisation sur l'écran et il est alors possible d'entrer les cartes ATS dans le lecteur. On répondra ensuite aux différentes questions posées par l'ordinateur.

Chaque spécimen est automatiquement programmé dans la première position libre.

Note Chaque numéro de carte ATS ou chaque contrôle ne peut être programmé qu'une seule fois en une certaine position. Si l'on veut qu'ils soient prélevés une autre fois, il faut les placer dans une autre position ou leur donner un autre numéro d'identification. Les positions des godets peuvent également être reprogrammés en tapant le numéro du godet, et en introduisant le numéro d'ATS.

De même, on peut déprogrammer un godet en tapant le numéro du godet et en appuyant sur "Enter" ceci efface la programmation pour cette position.

Si une position est occupée par un échantillon dont certains résultats sont en mémoire, elle ne peut être utilisée au cours du test. Le message "position occupée" apparaît.

3.3.4. Modification des cartes ATS

Des tests peuvent être effacés ou rajoutés à une carte ATS. Le point essentiel à retenir est que le QUANTACHEM effectue les dernières demandes enregistrées. Aussi, quelque soit la teneur d'une carte, ce sont les dernières demandes formulées sur le numéro de carte qui prévalent. Les cartes ATS doivent être modifiées de la façon suivante :

3.3.4.1. Avant le départ du premier test en mode ATS, on rajoute les tests désirés, et on efface ceux qui étaient préalablement marqués au crayon. On appuie sur "Test Request", ensuite, on rentre au clavier la position du godet correspondant au spécimen et on fait relire sa carte modifiée.

3.3.4.2. Après que le premier test en mode ATS ait été effectué :

- a) - il doit demeurer au moins un échantillon avec des tests préalablement programmés en plus du spécimen à modifier.
- b) - Les spécimens dont les cartes sont à modifier doivent comporter au moins encore un test à effectuer ou à accepter.
- c) - Il suffit alors de modifier la carte ATS en marquant les tests supplémentaires à effectuer sur le spécimen et d'effacer les marques correspondant aux tests à supprimer et de ne laisser que les tests souhaités.
- d) - On appuie sur "Test Request", puis on tape au clavier le numéro de godet correspondant au spécimen et on fait relire la carte.

3.3.4.3. Après validation des demandes ultérieures faites sur la carte à modifier, celle-ci n'est alors plus mémorisée en "Test Req". La feuille de réponse a déjà été imprimée. Cette carte peut être modifiée et réenregistrée en "Test Request". Le quantachem traitera cet échantillon comme un nouvel échantillon avec le même numéro d'ATS. Tous les nouveaux résultats seront stockés sur le disque D₁, séparément de ceux qui sont déjà enregistrés sous le même numéro.

Cette information pourrait être combinée avec une feuille réponse si l'on suit les instructions du paragraphe "utilité 23" (données démographiques qui doivent être retapées).

Note : Les examens demandés sous forme de profil peuvent être ajoutés ou effacés comme les tests individuels. Cependant, si une carte ATS est déjà programmée pour un profil et que certains paramètres du profil aient déjà été traités et acceptés, la carte peut être relue pour effacer le profil. Autrement, le profil sera redemandé et les tests déjà acceptés seront à nouveau exécutés. Les tests à ajouter doivent alors être refaits en mode "batch" et les résultats correspondants introduits par la touche "Header" (données démographiques).

3.4. L'UTILITE 04

Permet de définir deux paramètres : la date et l'heure.

3.5. L'UTILITE 05

Elle sélectionne l'ordre de passage des tests.

3.6. L'UTILITE 06

Précise le remplissage et la vidange des bains thermostatés.

Il n'y a pas d'utilité 7 à 10.

3.7. L'UTILITE 11

Définit le nom des dosages.

3.8. L'UTILITE 12

Elle délimite les profils et précise les rapports : A/G, GOT/GPT, globuline T.I.B.C.

3.9. L'UTILITE 13

Fixe la fourchette des normales des rapports.

3.10. L'UTILITE 14

Détermine les données numériques des contrôles.

3.11. L'UTILITE 15

Données numériques des standards.

3.12. L'UTILITE 16

Fixe les valeurs des normales pour un paramètre donné.

Il n'y a pas d'utilité 17 à 20.

3.13. L'UTILITE 21

Donne l'accès aux listes de travail.

3.14. L'UTILITE 22

Elle est importante car elle réalise l'acceptation des résultats. En actionnant la touche "Page", on déplace l'index de haut en bas. Les résultats de la chimie ainsi sélectionnée sont affichés en actionnant "Enter".

Il faut placer un X devant les résultats à rejeter, et inversement.

En appuyant sur "Enter", on valide tous les autres résultats.

Si tous les résultats sont mauvais, on refait le test en faisant "Check-list".

Note

En déplaçant la flèche jusqu'au test en cours et en appuyant sur "Enter" on fait apparaître le message "Appuyer sur Enter" pour accepter les résultats du test en cours. En faisant cela, on accepte même les tests incomplets. Il n'est généralement pas recommandé d'utiliser cette possibilité.

La procédure "acceptation des résultats" peut être commode pour voir des résultats antérieurs même déjà acceptés. Si plusieurs tests sur une même chimie ont été effectués, seul le plus récent est affiché ; si un test a été programmé deux fois, les résultats des deux essais sont affichés. Aucun résultat d'ATS ne s'affiche si tous les paramètres programmés ont été effectués. Un résultat rejeté peut être une nouvelle fois accepté. Au contraire, un résultat accepté ne peut être rejeté. Les résultats que l'on veut vérifier doivent l'être en utilisant le mode "Batch" et réintroduits pour édition par la touche "Header".

3.15. UTILITE 23 Feuille de résultats.

Cette fonction permet de rentrer les informations concernant les patients :

- . appuyer sur "Header" (on accède directement à cette fonction à cause de son emploi fréquent) ;
- . taper le n° ATS à 6 chiffres.

L'examen le plus récent portant ce numéro sera affiché. Les examens antérieurs avec le même numéro seront visualisés chaque fois que l'on actionnera "Enter". Chaque patient sortira avec l'un des messages suivants :

- . "Actic" - le travail est en cours pour ce numéro d'ATS.
- . "Complet" - tous les paramètres sont exécutés pour ce numéro d'ATS.
- . "Not on file" - ce numéro d'ATS n'est pas sur le disque.

→ Les informations et les résultats concernant un patient peuvent être modifiées en tapant au clavier. En appuyant sur "Page", la modification sera mémorisée sur le disque D₁.

→ En appuyant une deuxième fois sur "Page", on sortira une feuille imprimée.

Note : Toutes les informations concernant un patient peuvent être modifiées en les tapant au clavier à la place de ce qui est affiché sur l'écran. Si l'on désire effacer un résultat, on met la lettre E à la place du premier caractère du résultat, et on appuie sur "Page". La feuille de réponse ne comportera pas de résultat de nom de test. Si l'on met la lettre D (delete), seul le résultat de test sera effacé, mais il y aura la fourchette des normales. On peut également introduire un commentaire.

→ Recherche des résultats : Par la touche "Header", on peut accéder à de multiples fonctions.

Contrôles : Chaque sérum de contrôle est identifié par un numéro

de 1 à 8 qui peut être entré en mémoire comme une carte ATS allant de 0-1 à 000008. En actionnant la touche "Enter", l'ensemble des résultats du contrôle précédent sera affiché.

Numéro d'hospitalisation :

Quand on connaît ce numéro, on le fait entrer en mémoire. Tous les résultats antérieurs enregistrés sous ce numéro apparaîtront.

La vérification du disque D₁ "View D₁"

Quand on veut passer en revue les places disponibles sur D₁, inscrire : "View D₁" à la place du numéro d'hospitalisation (aucun numéro d'ATS ne peut apparaître à ce moment là).

→ Résultats cumulés des contrôles

L'utilité 14 permet de donner les contrôles dans une fourchette de 2 SD. Quand les contrôles sont exécutés, leurs valeurs apparaissent entre crochets et clignent si elles se situent en-dehors des deux SD. Cependant, pour les résultats de contrôle cumulés, la fourchette est de trois SD.

Résultats de contrôles de qualité cumulés

- . taper l'utilité 14 et appuyer sur "call".
- . Inscrire le numéro de contrôle souhaité et appuyer sur "Enter". En appuyant sur "Page", on fait apparaître la deuxième page.

Note : Effacer toutes les informations en tapant "CTRL ERASE" et en appuyant sur "Enter" quand on veut changer le numéro de lot du contrôle ou les valeurs des paramètres de ce contrôle.

3.16. UTILITE 25

Effacement des résultats d'un disque :

→ Faire l'utilité 25 et appuyer sur "CALL".

→ Taper le numéro de code de sécurité et "ENTER". Ce numéro à quatre chiffres est constitué de caractères alpha numériques. Le numéro de code est défini par l'agent local.

Mettre le disque D_1 à effacer dans le lecteur D_1 et appuyer sur la touche "ENTER".

Note : Chaque disque peut être effacé jusqu'à 20 fois. Chaque opération d'effacement est inscrite sur l'écran. Il faut trois minutes pour effacer un disque.

3. 17. PLACARD DES RÉACTIFS

On peut y mettre 63 flacons. Ceux qui sont conservés à la température ambiante sont désignés verticalement par les lettres A à D et horizontalement 1 à 8.

Les flacons réfrigérés sont divisés en deux catégories :

- . flacons de 25 ml dans les rangées E et F numérotées de 1 à 8 ;
- . flacons de 500 ml dans les rangées G, H et J numérotées de 1 à 5.

Sur les flacons sont inscrits les noms des réactifs.

Deuxième Partie

*

ÉTUDE PRATIQUE
DE LA MISE EN ROUTE
DU "QUANTACHEM"

1 - METHODE D'ETUDE DE LA MISE EN ROUTE DE L'APPAREIL

Cette étude consistera à effectuer des séries d'analyses pendant un temps déterminé, en vue de vérifier la fiabilité de l'appareil dans les dosages.

1.1. OBJET DU TRAVAIL

L'un des soucis majeurs du biologiste a été d'améliorer les performances de ses recherches, mais aussi l'augmentation considérable du nombre d'analyses, ce qui l'a obligé à remplacer, ces dernières années, la plupart des méthodes manuelles par des méthodes automatisées.

L'automatisme consiste à faire exécuter par une machine, le geste du technicien, afin de le rendre plus efficace, plus précis, plus rapide. Presque toutes les opérations peuvent être automatisées, à savoir : les pipetages, les transferts, les lectures.

L'automatisme consiste à utiliser un appareil totalement automatique qui peut s'auto-réguler et corriger même les erreurs qu'il risque de réaliser. De ce fait, le technicien n'a plus qu'un rôle d'entretien et de surveillance. Par contre, dans un appareil automatisé, le technicien reste le responsable de tous les temps de l'analyse.

Le Laboratoire de Biochimie de l'Hôpital NORD, inauguré en 1964, n'est plus qu'à un pas de la réalisation de ce souhait, c'est-à-dire faire disparaître toutes les méthodes manuelles et multiplier le nombre des analyses en améliorant leur qualité. Pour cela, il s'est doté du QUANTACHEM, qui est un appareil de la quatrième génération des auto-analyseurs discontinus entièrement automatisés grâce à un ordinateur.

L'objet de notre travail sera de "valider" l'usage de cet appareil hautement perfectionné.

1.2. INSTALLATION

Elle est très importante pour le fonctionnement de l'appareil. La société créatrice "AMERICAN MONITOR" exige certaines conditions qui doivent être respectées afin que l'appareil donne satisfaction pendant plusieurs années.

1.2.1. Emplacement

Il doit être approprié en tenant compte des nécessités du laboratoire et de celles de l'installation. L'appareil doit être installé dans un espace suffisant pour effectuer des opérations d'entretien et permettre une ventilation adéquate. L'endroit choisi possédant un sol carrelé, rigide et ferme, doit être propre et bien éclairé.

1.2.2. Environnement

La pièce doit être climatisée. La température de la salle devant se situer entre 20 et 25°C, ne doit pas excéder 26°C. Les températures plus hautes peuvent causer des erreurs techniques ou la défaillance des constituants. L'appareil peut fournir jusqu'à 12.000 BTU'S/heure avec un niveau sonore de 63 db. Les conditions idéales de la salle sont de 22°C à 55% d'humidité relative.

1.2.3. Puissance électrique

Une ligne électrique monophasée avec neutre et terre est requise avec les caractéristiques suivantes : 200-240Volts de petits coups ; 60 Hz (50 Hz optimal), 30 ampères. La puissance nécessaire pour le compresseur est de 15 Ampères. Le circuit du disjoncteur et le fusible doivent être estimés selon la consommation de l'équipement. L'appareil doit être placé sur une ligne présentant de solides garanties de sécurité.

1.2.4. Conditions de plomberie

Aucune plomberie externe n'est exigée. Si une évacuation est désirée,

elle ne doit pas dépasser 10 cm au-dessus du niveau du sol.

1.3. TECHNIQUES OPERATOIRES

1.3.1. Opérations préliminaires

1.3.1.1. Vérification de l'état de la puissance

- . on doit s'assurer que tous les disjoncteurs sont en bonne position ;
- . les boutons "POWER" et "PRESSURE" de la console chimique doivent être en position abaissée avec les lampes indicatrices allumées;
- . lecteurs de carte : la lampe témoin doit être allumée ;
- . imprimante : les témoins d'alimentation électrique et le bouton sélectif doivent être allumés;
- . lecteurs de disques : ils doivent être également allumés ;
- . placer les disquettes D_0 et D_1 à l'envers avec étiquettes en arrière ;
- . charger la mémoire de l'ordinateur avec le bouton "LOAD" des disquettes, et attendre l'apparition du tableau d'orientation sur l'écran. Puis le chargeur s'arrête et des fonctions du QUANTACHEM progressent et effacent toute la mémoire de l'ordinateur, puis rechargent la mémoire de l'information stockée sur le disque. Le disque D_1 peut contenir 640 dossiers de patients. Chaque spécimen ou contrôle va utiliser une place.

En appuyant "TEST REQUEST", le disque peut être effacé 20 fois, ou servira à stocker indéfiniment les informations.

1.3.1.2. Vérification de la console chimique

Il faut :

- . remplir d'eau distillée les bouteilles A₅, A₆, et D₃ ;
- . remplir les bouteilles de tous les réactifs ;
- . inspecter et s'assurer qu'il n'y a pas de fuites dans les vannes ;
- . s'assurer que les jauges de régulation indiquent respectivement les pressions appropriées et qu'il n'y a pas de fuites d'air autour de certaines bouteilles dans la console. :
 - jauge 1 : 7,5 psi : pression des flacons
 - jauge 2 : 20 psi : pression du piston
 - jauge 3 : 10 psi : bouteilles A₅ et A₆ et transfert
 - jauge 4 : 6 psi : distributeur d'échantillons.

Rechercher les fuites d'air avant d'ajuster les régulateurs. Les flacons de réactifs doivent être mis sous pression avant le contrôle.

1.3.1.3. Disque de distribution des échantillons

Remplir d'eau les bains d'incubation.

1.3.1.4. Disque de test

- . vérifier s'il y a des fuites à l'extrémité du tube de distribution ;
- . Ajouter journellement de l'eau dans le bain-marie jusqu'à ce que le réservoir rejette le surplus dans le tuyau d'évacuation ;
- . essuyer les agitateurs et la sonde de transfert de test avec de l'eau désionisée et contrôler l'alignement ;
- . vérifier la réfrigération de la source lumineuse du spectromètre (le bloc de cuivre doit être froid).

1.3.1.5. Sonde d'échantillon

Nettoyer la sonde d'échantillon avec de l'eau désionisée et contrôler son alignement.

- Appuyer sur "START".
- Taper "Test ID 31" et appuyer sur la touche "ENTER".
- Taper "SP" (purge de la sonde à échantillon) et appuyer sur "ENTER" ; taper "ENTER" pour répéter l'opération. Faire SP au moins six fois, chaque fois que les bouteilles A₅ et A₆ sont remplies.
- Faire "PURGE" en utilisant le Test ID (00) chaque fois que les bouteilles A₅ et A₆ sont remplies.

1.4. OPERATION EN MODE "BATCH"

1.4.1. On fait d'abord une fiche de travail avec l'information suivante :

- . nom du test
- . nom du patient
- . emplacements des godets de sérum pour les standards et les patients.

1.4.2. On appuie sur la touche "BATCH" ; l'ordinateur demande :

- . de taper le numéro du test désiré
- . d'appuyer sur "ENTER".

1.4.3. Taper les positions des sérums de patients pris dans la fiche de travail :

Exemple : 6-10, 17-19 (les positions 1-5 étant réservées aux standards).

Attention : Quand on tape un nombre élevé de positions de godets, cela peut prendre deux lignes. Ne pas laisser la moitié d'un nombre sur la première ligne.

- . appuyer sur "ENTER"
- . appuyer ensuite sur "CHECK-LIST".

On se retrouve maintenant en pré-test.

1.4.4. Vérifier l'écran pour :

- . le nom du test approprié
- . le nombre de tubes
- . les positions des godets de standard

1.4.5. Mettre les standards dans les positions de godets désignées sur l'écran, puis placer les sérums selon la liste de travail.

Placer enfin le nombre voulu de tubes de test sur le plateau de test, en commençant par la position 6. Marquer un temps d'arrêt, s'assurer :

- . que tous les standards sont dans les bonnes positions
- . qu'il y a le nombre approprié de tubes de test sur le plateau de test
- . que le plateau échantillon a été chargé
- . qu'il y a assez de réactifs pour faire les tests programmés
- . l'écran montre toujours que l'on est en pré-test.

1.4.6. Consulter la note d'application de la chimie appropriée et suivre toutes les instructions préliminaires.

- . l'imprimante imprime automatiquement le nom du test, la fourchette des valeurs normales pour l'adulte homme, les positions des godets et leurs valeurs ;

- . l'opérateur doit suivre le graphique sur l'écran et surveiller les erreurs ou les messages. Chaque fois qu'un petit carré apparaît à côté d'un résultat, rejeter ce résultat, à moins qu'il ne puisse être justifié.

Le test est achevé quand "CHECK-LIST" apparaît.

1.5. OPERATION EN MODE ATS

Cette méthode élimine la nécessité pour l'opérateur d'entrer manuellement l'identification du patient et la nature du test dans l'ordinateur. Le maniement de papier et les possibilités d'erreurs dans l'entrée des numéros d'identification et l'information concernant la clinique ont été réduits par un simple marquage du carton ATS. Il suffit de cocher les cases au crayon. Ce carton est constitué de trois parties:

- . en haut de la carte, il y a un emplacement pour le nom du patient, pouvant être rempli au niveau des infirmiers, dans le bureau des docteurs ou dans le laboratoire. Le numéro d'identification du patient est également lu dans le QUANTACHEM par le lecteur de carte ;
- . la deuxième partie de la carte contient l'emplacement des chimies. Une simple marque dans sa surface peut sélectionner d'une à trente et une chimies.
- . la troisième partie, semblable à la deuxième par son libellé, peut être utilisée pour la facturation ou d'autres buts.

Après que la carte ATS marquée ait été donnée à l'opérateur, elle est introduite dans le lecteur de cartes. L'appareil, à ce moment, identifie le patient par son numéro ATS, reçoit toutes les informations concernant les chimies à effectuer pour la patient, et indique à l'opérateur où il doit placer le sérum identifié dans chaque ATS sur le disque de sérum.

1.6. MECANISMES DE DOSAGE

1.6.1. Principe

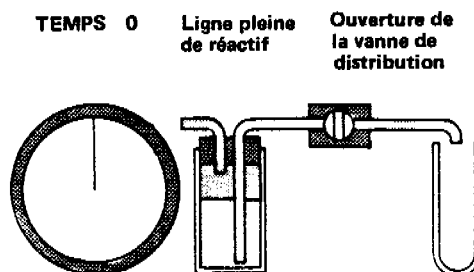
La vitesse d'écoulement d'un liquide est fonction de la pression, de la viscosité, de la température et de l'ouverture par laquelle il doit passer.

Ces variables étant maintenues constantes, le volume du liquide circulant dans le distributeur de la ligne est contrôlé par la durée du temps d'écoulement. C'est-à-dire qu'une unité de temps correspond directement à une unité de volume d'échantillon ou de réactif.

1.6.2. Distribution de réactifs

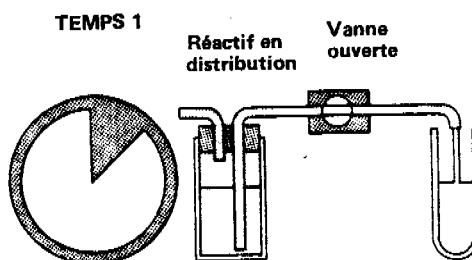
1.6.2.1. Temps 0

Tous les flacons de réactifs sont sous la pression de 7,5 psi. La ligne de réactif est complètement remplie et la vanne de distribution est fermée.



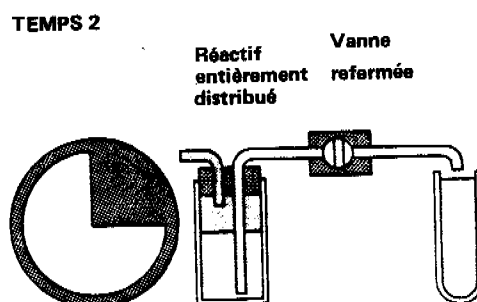
1.6.2.2. Temps 1

Le réactif commence à être distribué lorsque la vanne est ouverte et la pression d'air expulse le réactif de la ligne.



1.6.2.3. Temps 2

La vanne se ferme lorsque le temps programmé est écoulé et que la quantité de réactif est distribuée. Une horloge électronique qui s'ouvre et se ferme une fois commandée permet de contrôler le blanc des vannes. Cette horloge est elle-même un ordinateur, ce qui permet de produire des quantités d'échantillon ou de réactif avec précision et exactitude.



1.6.3. L'échantillonneur

1.6.3.1. Etape 1 : échantillonnage

Le système d'échantillonnage utilise une pression de + 6 psi, pour transférer l'échantillon du godet d'échantillon aux tubes de réaction. Le dispositif de prélèvement descend dans le godet, de sorte que le sérum monte dans la ligne d'échantillon. Les vannes de transfert et de vidange se ferment, ce qui permet d'immobiliser l'échantillon dans l'orifice du tube d'échantillon.

1.6.3.2. Etape 2 : échantillonneur

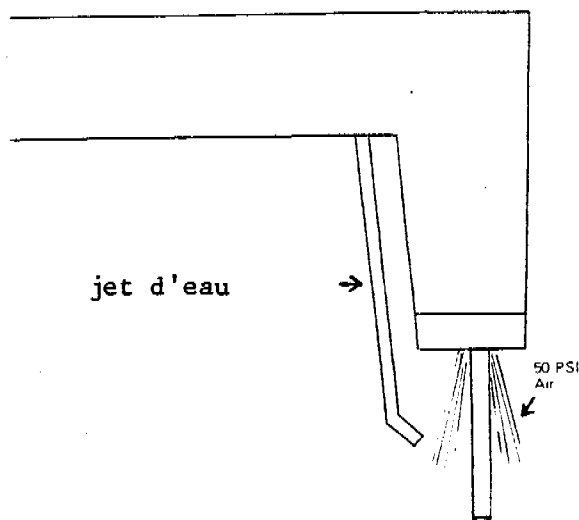
La pressurisation du godet est stoppée et l'échantillonneur se déplace à travers la station de rinçage vers le disque de test. Comme il arrive au milieu de la station de rinçage, un jet d'air à la pression de 56 psi est soufflé sur l'échantillonneur. Tout sérum restant à la surface extérieure de la sonde est ainsi enlevé afin d'empêcher la contamination par un excès de sérum.

1.6.3.3. Etape 3 : distribution des sérums

L'échantillonneur étant maintenant sur le disque de test, la vanne de dilution s'ouvre et de l'eau désionisée en provenance d'un réservoir pressurisé pousse le sérum dans le tube de réaction.

1.6.3.4. Etape 4 : lavage total de l'échantillonneur

Après avoir distribué le sérum dilué, l'échantillonneur revient au milieu de la station de rinçage et s'arrête. La sonde est lavée à l'extérieur par un jet d'eau désionisée et séchée par un courant d'air. A l'intérieur, elle est également lavée par de l'eau désionisée. Elle repart ensuite sur l'échantillon suivant et le cycle recommence. Ce lavage minutieux empêche la fibrine de boucher l'échantillonneur et la contamination d'un échantillon sur l'autre. L'emploi de colorants a montré que la contamination est très faible.



1.6.4. Transfert du mélange

La réaction colorée terminée, une sonde de transfert descend dans le tube de réaction pressurisé. Le mélange réactionnel est entraîné dans la ligne de transfert vers la cellule de lecture à température réglée pour la lecture d'absorbances. Chaque nouvel échantillon expulse le précédent et la contamination est insignifiante.

1.6.5. Mélange

Il se fait par ouverture de la vanne à air suffisamment longtemps pour créer une grosse bulle suivie de la fermeture permettant de produire une bulle qui ne déborde pas. Le mélangeur est un système à double sonde, ce qui permet de mélanger deux fois les tubes de réaction, excepté dans les chimies avec blanc sérum. Dans ce cas, la sonde de droite mélange le "blanc" et la sonde de gauche mélange le tube de sérum de test. La durée de production des bulles est variable, allant de 75 millisecondes à 175 millisecondes avec des incréments de 25 millisecondes. Le délai entre les bulles varie de 150 millisecondes à 1,05 seconde avec des incréments de 150 millisecondes. Comme les bulles approchent du bord des tubes, elles éclatent. De cette façon, on garde tout le mélange réactionnel dans le tube.

1.7. PRECAUTIONS D'EMPLOI

1.7.1. Procédure d'arrêt en urgence

- . enlever les disquettes ;
- . couper les interrupteurs 117 volts situés derrière la console chimique (le réfrigérateur, le bain froid et le bain marie restent branchés) ;
- . couper le disjoncteur 230 V. situé derrière la console chimique pour un arrêt complet.

1.7.2. Volume d'échantillon

Le godet d'échantillon peut contenir 2 ml de sérum. Selon le nombre et les types de chimies choisies pour un seul malade, il est possible qu'il soit nécessaire de procéder à un nouveau remplissage du godet d'échantillon entre les chimies.

1.7.3. Les acides forts volatils, les solvants organiques et les liquides inflammables doivent être évités dans les systèmes de réactif.

1.7.4. Ne pas manipuler l'appareil sans eau dans les incubateurs.

1.7.5. Utiliser uniquement de l'eau désionisée dans les bouteilles d'eau de réactif.

1.7.6. Vérifier que les godets d'échantillon soient assez profonds pour que la sonde d'échantillon (1/8 d'inch) plonge correctement et sans dommage.

1.7.7. Si l'appareil est doté d'un système d'interrupteur avec redémarrage automatique, il redémarrera sans coupure. En cas de coupure de courant, enlever les disquettes. Elles doivent être manipulées par le haut, les doigts sur l'étiquette sans exercer de grande pression. On fait une nouvelle étiquette chaque fois que c'est nécessaire (par suite de modifications) et on écrit sans appuyer. Il ne faut pas effacer les mentions sinon les débris peuvent se loger entre les disquettes et l'enveloppe, ce qui peut endommager l'ossature du ruban, ni altérer magnétiquement les programmes. Les disquettes ne doivent pas être courbées ni pliées ou exposées aux champs magnétiques (moteurs, lecteur de carte, écran, etc). Il ne faut pas toucher les aires exposées des disquettes magnétiques ; remettre dans l'enveloppe après usage, et stocker entre 10°C et 52°C (50°F à 125°F).

2 - METHODOLOGIES CHIMIQUES DE LA MISE EN ROUTE

2.1. GENERALITES

L'analyse du sang au cours des états pathologiques doit, pour apporter à la clinique des renseignements efficaces, reposer sur la considération des deux rôles du sang.

D'une part, le sang constitue un véritable tissu et définit le milieu intérieur dont la constance est maintenue par l'intervention de mécanismes nombreux, toute altération de cette constance constitue un élément important du pronostic. D'autre part, le sang constitue la voie de transit du métabolisme et l'on pourra y saisir au passage la présence des produits de déchets soit en quantité excessive, soit en présence anormale.

2.1.1. Prélèvement

Il est certain que sans un bon prélèvement, il ne saurait y avoir de bonne analyse. De plus, dans certains cas, non seulement un prélèvement mal fait empêche le travail du biologiste, mais dans d'autre cas, il peut conduire à un faux résultat, sans que le biologiste puisse s'en apercevoir et le détecter. Il est donc nécessaire et impérieux dans un premier temps de recueillir les produits biologiques selon des modes et des conditions bien établis, à l'aide d'un matériel approprié, et dans un deuxième temps, de connaître les échantillons dosés par le QUANTACHEM et leurs modalités d'obtention.

2.1.1.1. Modes de prélèvement

En fonction du mode de prélèvement, on distingue :

- . le sang veineux
- . le sang capillaire
- . le sang artériel

2.1.1.1.1. Le sang veineux (Sg V) est le plus souvent prélevé dans les veines superficielles du pli du coude, avec une aiguille bien coupante. Le sang contenu dans la seringue sera rapidement réparti dans les tubes spéciaux pour être transporté au laboratoire.

2.1.1.1.2. Le sang capillaire (Sg C) est de plus en plus fréquemment prélevé du fait de la miniaturisation des prélèvements (en particulier chez les enfants). Le prélèvement se fait à la pulpe du doigt, au lobe de l'oreille ou au talon pour les enfants. Il se fait à l'aide des lancettes ou des vaccinostyles.

2.1.1.1.3. Le sang artériel (Sg a) est réservé à des déterminations exceptionnelles : gaz du sang, étude de l'équilibre acido-basique, ammoniacque. Le prélèvement est délicat et doit être réalisé par un médecin. Il se fait à l'artère humérale ou fémorale.

2.1.1.2. Conditions de prélèvement

On opère en général le matin à jeûn ou tout au moins n'ayant absorbé aucun aliment liquide ou solide depuis 12 heures. C'est-à-dire ne rien boire ni manger depuis le repas du soir jusqu'au lendemain matin. Certains composants du sang existant à des concentrations différentes selon le rythme circadien, on impose le prélèvement à une heure déterminée. D'autre part, le sujet doit se trouver en état de repos, allongé et détendu. Le fait que le sujet ait fait un effort physique pour se rendre au laboratoire explique pour une part les différences qui peuvent s'observer entre les résultats obtenus chez un sujet hospitalisé et ambulante. Enfin, il faut éviter toutes émotions, rassurer le patient et le placer dans un endroit confortable (influence sur le taux du glucose, du phosphate, des acides gras non estérifiés du plasma, sous l'influence des décharges d'adrénaline).

2.1.1.3. Matériel de prélèvement

Le matériel doit être sec et propre (aiguilles, seringues, tubes, bouchons, etc.). Le sang ne doit être ni trituré, ni secoué brutalement, mais agité par simple retournement dans un tube bouché. Les aiguilles et seringues doivent être stérilisées à l'étuve et bien refroidies. Eviter toute hémolyse qui empêche la réalisation de nombreux dosages.

2.1.1.4. Echantillons à tester

Les dosages effectués dans le sang par le QUANTACHEM sont pratiqués sur le sérum du sang qui se sépare du caillot, ou sur le plasma.

2.1.1.4.1. les anticoagulants

Très souvent, il est nécessaire de rendre le sang incoagulable par addition d'anticoagulants pour obtenir après centrifugation le plasma avec son fibrinogène. Sans anticoagulant, le sang coagule en quelques minutes et après centrifugation ou rétraction du caillot de fibrine contenant les éléments figurés, on sépare du sérum sans fibrinogène. Pour cela, on ajoute au sang un anticoagulant en léger excès, afin de s'assurer que le plasma séparé ne coagule pas. Le sérum, lorsque la coagulation du sang n'est pas achevée, ou le plasma lorsque la quantité d'anticoagulant est trop faible, risquent de contenir de la fibrine, qui bouche les tubes des appareils automatiques ou les pipettes.

2.1.1.4.1.1. Anticoagulants qui complexent le calcium

. les oxalates -----

→ oxalate de sodium, ou oxalate de potassium, ou oxalate d'ammonium - dose recommandée : $3 \pm 0,3$ mg par ml de sang (environ 20 mmol/l).

→ Mélange de Wintrobe : mélange d'oxalate de potassium (0,8 mg) et d'oxalate d'ammonium (1,2 mg), soit entre

2 et 2,5 mg d'un mélange de deux parties oxalate de potassium et trois parties oxalate d'ammonium par ml de sang.

Les oxalates conviennent pour le dosage du fibrinogène car il est facile de neutraliser l'excès d'anticoagulant par addition d'ions Ca (II). Par contre, les oxalates ne conviennent pas pour le dosage du calcium qu'ils complexent. D'autre part, ils inhibent certains enzymes (nécessitant du Ca^{2+} ou Mg^{2+} comme coenzyme).

. les citrates

Ils sont surtout utilisés pour la détermination du fibrinogène ou pour la réaction de sédimentation; le citrate serait plus physiologique. Par contre, ils sont peu recommandés pour le dosage du calcium, la détermination de l'activité de certains enzymes, des électrolytes, du pH.

. E.D.T.A. et dérivés (versénates)

Mêmes avantages et inconvénients que les sels précédents. Cependant, la forme et l'aspect des éléments figurés du sang sont préservés (formule sanguine, hématocrite).

2.1.1.4.1.2. Anticoagulants inhibant les enzymes de la glycolyse

. Fluorure de sodium

C'est un mauvais anticoagulant, mais il bloque la glycolyse en empêchant la formation de lactate. Il est utilisé pour déterminer ces substances et les métabolites du glucose (on peut aussi opérer rapidement et ralentir la glycolyse en plaçant le sang à $+4^{\circ}\text{C}$ ou effectuer la déprotéinisation du sang aussitôt après prélèvement).

. Monoiodacétate de sodium

Il est utilisé à la dose de 0,5 mg par ml de sang ; le monoiodacétate est un bon antiglycolytique, mais un mauvais anticoagulant. Il est parfois additionné à l'héparine. Sa présence empêche les déterminations de nombreux enzymes.

2.1.1.4.1.3. Inhibiteurs d'enzymes de la coagulation

. Héparine et ses sels

Il ne faut jamais utiliser l'héparine commerciale qui contient du phénol. C'est l'un des meilleurs anticoagulants mais elle diminue la résistance des hématies à l'hémolyse. Elle trouble également la vitesse de sédimentation. On utilise les héparinates de sodium, d'ammonium et surtout de lithium à la dose de UI par ml de sang, ce qui correspond à 0,5 mg/ml de sang.

Ces sels n'interfèrent pas, en pratique, lors des déterminations des électrolytes (sauf celles du lithium du plasma) et de la plupart des constituants sanguins ou plasmatiques (sauf l'ammoniémie pour le sel d'ammonium et la phosphatase alcaline pour le sel de lithium).

. Lipoïde : anethol-disulfonate de sodium

peu soluble et pratiquement abandonné.

. Dextranes sulfonés ou héparines synthétiques

2.1.1.4.2. Séparation du sérum ou du plasma (Se, PI)

Le sang doit être centrifugé le plus rapidement possible après le

prélèvement. Pour obtenir le plasma, on centrifuge pendant 3 minutes à 1000/3000 g (soit 3000 à 5000 tours/minute pour une centrifugeuse ordinaire de 8 à 12 cm de rayon). Il se forme une couche inférieure constituée des éléments figurés, le plasma surnage. Si on centrifuge à 100/200 g (soit 1000 à 1500 tours/minute) pendant 10 minutes, les leucocytes et les plaquettes restent en suspension dans le plasma.

Pour séparer le sérum, décoller le coagulum des parois du verre à l'aide d'une fine baguette et centrifuger. Le sérum peut aussi être séparé après rétraction du caillot quelques heures à 37°C.

Le plasma et le sérum se conservent en tubes bouchés plusieurs jours à + 4°C, congelés à -20°C, ils se conservent indéfiniment, on peut ainsi préparer les sérums de contrôle.

2.1.4.3. Caractère du sérum

- . Il est jaune clair et limpide quand il est normal.
- . Il peut être opalescent par suite de la présence de particules lipoïdiques. A l'état normal, on observe à un degré un peu marqué après un repas particulièrement riche en graisse, à l'état pathologique, au cours par exemple de la néphrose dite, pour cette raison, lipoïdique. On peut clarifier un sérum opalescent en l'agitant avec un mélange d'éther et d'alcool.
- . Le sérum peut présenter une teinte jaune foncé (sérum ictérique). A l'état normal, cette coloration peut être due à la présence de caroténoïdes. Dans ce cas, on observe en général la même pigmentation des téguments (alimentation végétarienne). A l'état pathologique, cette coloration relève de la présence de bilirubine: le sérum verdit alors au contact de l'air par suite de l'oxydation de la bilirubine en biliverdine.
- . le sérum peut être laqué, présentant une coloration allant du rose pâle au rouge groseille par suite de la présence d'hémoglo-

bine ayant diffusé à l'état libre en dehors des globules rouges. L'origine de ce laquage a souvent une cause accidentelle et peut provenir d'une faute technique dans la prise de sang (présence dans le matériel utilisé. En pathologie, le sérum laqué se rencontre au cours des anémies hémolytiques aiguës).

Conclusion

Les conditions d'un bon examen de sang nécessitent une préparation spéciale du malade, une instrumentation stérile ou très propre, des notions exactes sur la quantité de sang à prélever et la façon de le recueillir, enfin des dispositions telles que l'intervalle de temps entre le prélèvement et l'exécution de l'analyse soit réduit au minimum.

Toutes ces conditions étant remplies, le biologiste peut effectuer les dosages biochimiques.

En effet, les possibilités de dosage du QUANTACHEM sont très vastes. Son domaine d'activité s'étend à 31 paramètres allant des dosages chimiques aux dosages enzymatiques. Notre étude pratique de la mise en route a porté sur quatre paramètres (bilirubine totale, fer sérique, cholestérol enzymatique et triglycérides) qui ont subi plusieurs séries de dosages. Bien qu'on ait effectué également des dosages de bilirubine libre et de magnésium, on n'en parlera pas dans la méthodologie car ils n'ont pas été suffisamment testés.

2.2 FER SERIQUE

L'importance du rôle du fer dans le sang est très grande puisqu'il joue un rôle capital dans l'érythropoïèse.

2.2.1. Rappels physiologiques

2.2.1.1. Formes du fer dans l'organisme

Dans l'organisme d'un homme adulte de 70 Kgs, on trouve 4,5 g soit

8064 $\mu\text{mol/l}$ de fer, et chez une femme de 60 kg, 2,6, soit $48 \cdot 10^2$ $\mu\text{mol/l}$. L'hémoglobine du sang en représente les deux tiers, près du quart est stocké dans le foie, la rate, la moelle osseuse et la muqueuse intestinale, sous forme de ferritine et d'hémosidérine, une petite quantité entre dans la constitution de la myoglobine et dans celles des enzymes qui jouent un rôle fondamental dans la respiration cellulaire : cytochrome, peroxydases, catalyses. La fraction de fer en mouvement, le fer sérique, ne représente qu'une infime partie du fer total, mais elle est le témoin de l'équilibre entre les rapports (aliments et destruction de l'hémoglobine), les besoins (synthèse de l'hémoglobine, de la myoglobine, de l'hémosidérine, etc.) et l'élimination (par les selles, les urines, la sueur, la bile, la desquamation des phanères : ongles, cheveux).

2.2.1.2. Métabolisme du fer dans l'organisme

Les besoins quotidiens de l'organisme en fer sont faibles (36 μmol chez l'adulte). En effet, la perte de fer physiologique est négligeable, car elle est largement compensée par l'apport alimentaire.

L'assimilation du fer utilisable des aliments (principalement des aliments riches en protéines, telles les viandes, fruits, épinards), dépend du suc gastrique qui assure sa solubilisation en sels ferriques, transformés en sels ferreux par différentes substances réductrices comme l'acide ascorbique, le glutathion, etc. La régulation de l'absorption du fer se fait uniquement au niveau de la muqueuse duodénale.

2.2.1.3. Caractères du fer sérique

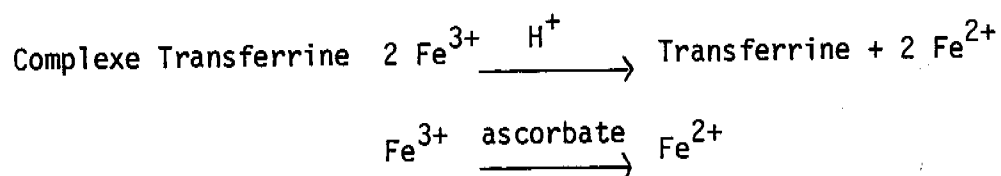
Le fer sérique est lié à une β_1 globuline du sérum : la sidérophiline ou transferrine ou Iron Binding proteine (I.B.P.) ou encore Total Iron Binding Capacity (T.I.B.C.). Il y a trois types de sidérophiline isolées par électrophorèse en gel d'amidon et dont la transmission est sous la dépendance de trois gènes allélomorphes sans caractère dominant :

- . la transferrine C , la plus fréquente, observée dans toutes les races (le phénotype CC se rencontre dans 99% de la race blanche) ;
- . les transferrines B (B_0, B_1, B_2), rares en Europe et non retrouvées dans les races noire et jaune ;
- . les transferrines D (D_0, D_1, D_2, D_3), exceptionnelles en Europe et rencontrées dans les races noire et jaune.

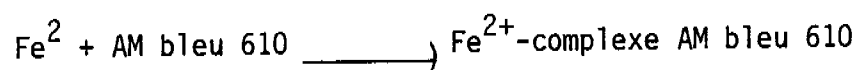
La transferrine n'est pas saturée normalement en fer, la quantité de fer transportée par cette protéine représente à l'état physiologique 30 à 40% de sa capacité totale de fixation.

2.2.2. Principe de la méthode de dosage

Le fer sérique libéré de la transferrine en milieu acide est réduit par l'acide ascorbique. En présence de 2, 4, 6 Tripyridil-S-Triazine il se forme un complexe coloré, bleu-violet, dont la densité optique est proportionnelle à la concentration en fer dans le sérum.



L'indicateur AM bleu est très sensible, il évite l'absorption spectrale maximum à 610 nm permettant de réduire au minimum l'interférence de bilirubine, d'hémoglobine et de caroténoïdes.



L'usage d'un procédé avec un "blanc sérum" élimine l'interférence généralement rencontrée avec les spécimens lipémiques.

2.2.3. Réactifs

Ils sont utilisés uniquement pour le diagnostic *in vitro*.

2.2.3.1.1. Chromogène

Il contient 5 mmol/l de 9-(2.pyridyl)-acenaphtol (1,2e)-as triazine et des antiseptiques non réactifs. Conserver à la température de la salle, 20°C à 25°C.

2.2.3.2. Réducteur

Chaque flacon contient 43 mmol d'acide ascorbique. Conserver à la température de la salle, 20°C à 25°C.

2.2.3.3. Tampon

Il contient un tampon d'acétate, pH 4,5 avec le diméthyl sulfoxide, la thiourée et des antiseptiques non réactifs.

Précaution : Une irritation est possible, éviter le contact avec la peau. A conserver à la température de la salle, 20°C à 25°C.

Conservés dans ces conditions, ces réactifs vont rester stables jusqu'à la date indiquée sur les étiquettes.

Une légère variation dans la composition des réactifs peut apparaître suivant les lots dans une certaine limite de tolérance, ce qui fait que cette variation n'a aucun effet contrariant pour les résultats du test.

2.2.4. Préparation du réactif

Pour préparer le réactif "réducteur" actif, on reconstitue les contenus d'un flacon de réducteur avec 75 ml d'eau désionisée exempte de fer libre et on mélange jusqu'à la dissolution totale.

Il faut conserver le réactif reconstitué sous réfrigération et le protéger contre l'exposition à la lumière. Ainsi conservé, le réactif va rester stable un mois.

REACTIF DE TRAVAIL	PREPARATION	CONSERVATION	STABILITE
Chromogène	(1) Tel quel	20 à 25oC	A l'expiration de la date de péremption
Réducteur actif	(2)+ 75 ml d'eau	10oC à 14oC	30 jours
Tampon	(3) Tel quel	20oC à 25oC	Expiration de la date de péremption

2.2.5. Spécimen

Le sérum est le spécimen de choix. Le plasma dérivé de l'usage des anticoagulants n'est pas utilisé. Le sérum est centrifugé, déplacé du culot et ensuite recentrifugé pour assurer le déplacement de toutes cellules du spécimen. Quoique l'hémolyse (moins de $18 \cdot 10^3$ $\mu\text{mol/l}$) puisse être tolérée sans affecter les résultats du test significatif, l'usage des spécimens hémolysés doit être évité si possible.

Le fer sérique demeure stable pour 4 jours à la température de la salle et jusqu'à une semaine entre 2°C et 8°C.

Précaution : Il est essentiel que tous les instruments utilisés dans la collecte des spécimens, aussi bien que pendant le dosage, soient exempts de trace de fer.

2.2.6. Conditions du dosage

(voir tableau page suivante)

TEST ID	19	NOMBRE DE PASSAGES	DEUX
Mode	Blanc sérum	Incubation programmée	10 minutes
Volume d'échantillon	250µl programmés	Température	37° C
Volume de diluant	100µl programmés	Filtre/longueur d'onde	3/610 nm
Standards	H₂O Standard II	Vitesse de transfert	5 secondes

Un passage. Mélangeur 1 100 sur 1050.

REACTIF	CODE	LOCATION	VANNE	STATION	VOLUME DISTRIBUE
Eau désionisée	R 1	D 3	56	04	0,2 ml
Chromogène	R 2	E 8	8	09	0,2 ml
Tampon	R 3	D 2	57	09	0,2 ml
Réducteur	R 4	F 7	16	09	0,2 ml
Chromogène	R 5	E 8	8	09	1 ml
Réducteur	R 6	F 7	16	09	0,7 ml

2.2.7. Modalités du test

- . prélèvement toutes les 8 secondes
- . distribution de 2 ml de réactif tampon à tous les tubes
- . distribution de 0,2 ml de réducteur à tous les tubes

- . distribution de 0,2 ml d'eau désionisée aux tubes "blanc"
- . distribution de 0,2 ml de chromogène aux tubes tests
- . mélange avec mélangeur 1 (100/750)
- . sonde de lecture : elle transfère et lit toutes les 8 secondes.

2.2.8. Contrôle de qualité

- . Exactitude et reproductibilité : qualités I et II.

2.2.9. Calibration

Elle utilise deux protéines basiques de référence aux taux de $8 \cdot 10^3$ à $72 \cdot 10^3 \mu\text{mol/l}$ de fer.

2.2.10. Valeurs exigées

Chaque laboratoire doit avoir ses propres fourchettes de valeurs normales (voir chapitre sur contrôle de qualité).

2.2.11. Applications cliniques

2.2.11.1. Variations nycthémérales

Chez le sujet normal, la sidérémie est maximale aux alentours de 12h. et minimale dans la soirée, les chiffres intermédiaires s'observent à 8h. L'interprétation d'une sidérémie risque donc d'être sujette à des erreurs si l'on ne respecte pas l'impératif d'un prélèvement toujours matinal. Il est à noter que chez les sujets travaillant la nuit, à rythme de vie inversé, le cycle nycthéméral du fer est également inversé. Le sommeil joue donc un rôle prépondérant dans ces oscillations.

2.2.11.2. Variations pathologiques

Elles sont en général assez nettes, malgré l'amplitude des chiffres normaux.

2.2.11.2.1. Les hyposidérémies, dont les chiffres peuvent descendre jusqu'à 20 µg %, s'observent lorsqu'il y a :

- . perte de fer par hémorragies répétées (hernies hiatales, hémorroïdes, méno ou métrorragies, cancers digestifs, etc.).

Les hémorragies massives ont une répercussion moindre sur le fer sérique car le foie compense la perte en mobilisant ses réserves (ferritine)

- excès d'utilisation du fer comme dans les polyglobulies
- insuffisances d'apport alimentaire
- achlorhydrie : anémie hypochrome des gastrectomisés, maladie de BIERMER
- carence de résorption intestinale : maladie coeliaque, sprue
- infections graves
- états carenciels : scorbut, etc.

2.2.11.2.2. Les hypersidérémies qui peuvent atteindre 54 µmol, s'observent :

- . dans les hémochromatoses et les hémossidéroses
- . au cours des hépatites aiguës primaires et secondaires et de la cirrhose portale aiguë (nécrose des cellules hépatiques).
- . dans les anémies hypochromes hypersidérémiques, le trouble de la synthèse et de l'hémoglobine peut être héréditaire ou toxique essentiellement.

2.3. BILIRUBINE TOTALE (BILIRUBINE DIRECTE + LIBRE)

2.3.1. Rappels physiologiques

La bilirubine est un composé hydrophobe qui se forme essentiellement

lors du catabolisme de l'hémoglobine. Elle est transportée dans le plasma, liée à la sérum-albumine. En pathologie, si les capacités de liaison de la sérum-albumine sont dépassées, la bilirubine non liée se diffuse dans les tissus lipidiques, en particulier dans le cerveau où elle est toxique.

Au niveau du foie, la bilirubine est captée par les hépatocytes qui synthétisent une bilirubine glucurono-conjuguée sous l'action d'une glucuronyl transférase. Cette bilirubine conjugquée, hydro-soluble, est normalement excrétée par la bile dans l'intestin où les bactéries la transforment en stercobilinogènes. Une partie des dérivés formés est réabsorbée, le reste étant éliminé dans les selles.

2.3.2. Historique des pigments biliaires

Depuis 1916, lorsque HIJMANS VAN DEN BERGH et MULLER décrivirent la réaction indirecte et directe du diazo dans le sérum, il y eut beaucoup de discussions. Les recherches des années 1950-1960 ont apporté des éclaircissements considérables sur ce point.

La première contribution importante à ce problème a été faite en 1953, lorsque COLE et LATHE séparèrent les pigments de réaction directe et indirecte par chromatographie : Au même moment COLE, LATHE et BILLING, (1954) démontrèrent que le pigment de réaction directe était composé de deux constituants provisoirement appelés pigments I et II. Plus tard, il fut trouvé que ce pigment était formé de bilirubine et d'acide glucuronique (BILLING et LATHE, 1956, BILLING, COLE et LATHE, 1957). La présence d'acide glucuronique dans le pigment de réaction directe, a été démontrée simultanément par SCHMID (1956, 1957) et par TALAFANT, (1956). Ces résultats ont abouti à une connaissance très poussée du métabolisme des pigments biliaires et de leur mise en évidence dans différents types de jaunisses.

De nouveaux articles ont été publiés par SCHMID (1957b, 1958), BILLING et LATHE (1958) et BILLING (1959).

2.3.3. Différences de propriétés chimiques et physiologiques des deux types de pigments

2.3.3.1. Bilirubine libre

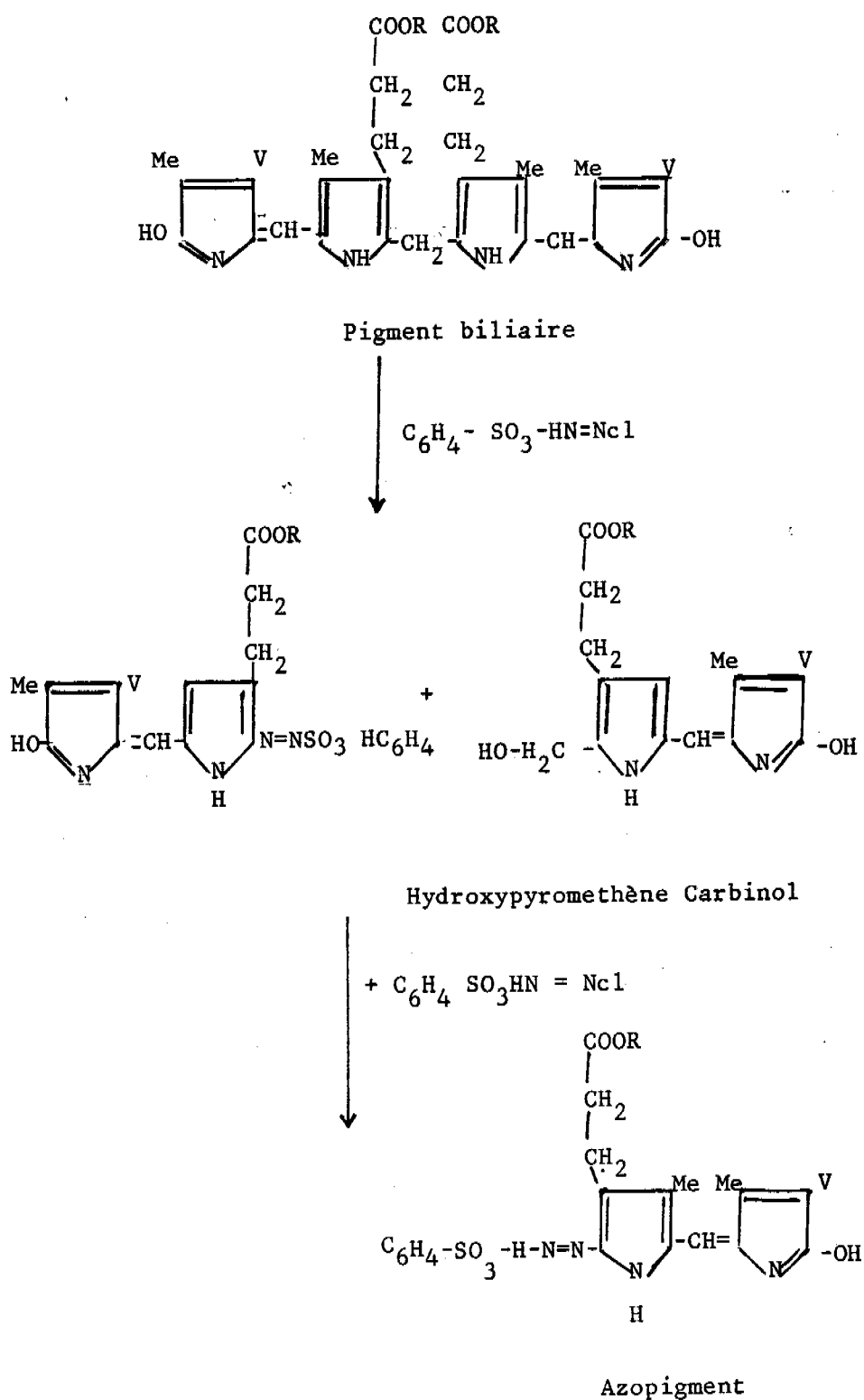
C'est un acide dibasique, la plupart du temps insoluble dans l'eau, soluble dans les alcalis, le chloroforme et d'autres solvants gras. Elle est le produit final naturel du catabolisme de l'hémoglobine et d'autres substances contenant l'hème. Elle est formée dans le système réticulo-endothélial et déversée dans le sang circulant. La quantité de bilirubine libre formée par jour est de 427,7 μmol d'hémoglobine.

2.3.3.2. Bilirubine conjuguée ou directe

Elle apparaît sous deux formes : bilirubine diglucuronide (pigment II) et un pigment dans lequel le pourcentage moléculaire entre la bilirubine et l'acide glucuronique est 1/1. La conjugaison avec l'acide glucuronique a lieu dans les cellules hépatiques sous l'action d'une enzyme, la glucuronyl transférase, avec l'acide glucuronique diphosphate uridine comme donneur d'acide glucuronique. Le conjugué de type ester (ou acyl), l'acide glucuronique étant attaché au groupe carboxyl de la molécule de bilirubine.

Réaction diazo des pigments biliaires (d'après BILLING et LATHE, 1958, modifiée).

Voir formule page suivante.



- . Bilirubine conjuguée R = H
- . Bilirubine diglycuronide R = glycuronyl

PROPRIETES	BILIRUBINE	BILIRUBINE
	LIBRE	DIRECTE
Type de réaction directe diazo	Négative	Positive
Type de réaction indirecte diazo	Positive	Positive
Solubilité dans l'eau (pH < 7)	-	+
Solubilité dans le chloroforme	+	-
Attachement au sérum albumine	+	+
Affinité pour les protéines de sérum précipitées	(+)	++
Affinité pour le tissu cranien	+	-
Facilité d'oxydation	+	++
Photosensibilité	++	+
Absorption maximum dans le sérum	250 m μ	420 m μ
Réaction d'hydroxamate (SCHACHTER, 1957)	-	+
Site de formation	Système réticulo- endothélial	Foie
Présence dans le sang normal	+	+
Présence dans la bile	-	+

Note : Ces propriétés sont importantes dans la méthodologie chimique de la bilirubine totale.

2.3.4. Méthodologies chimiques

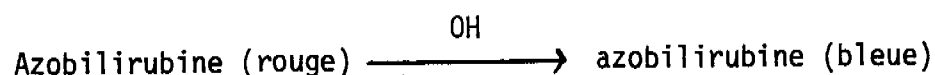
2.3.4.1. Principe de la méthode de dosage

La bilirubine totale ou pigment biliaire est un élément normal du plasma et du sérum sanguins auxquels elle donne une coloration jaune.

La méthodologie brevetée est une modification du procédé de JENDRASSIK et GROF. Le dosage de la bilirubine est basé sur la réaction de diazotation de la bilirubine du sérum avec l'acide sulfanilique diazoté sous forme d'azobilirubine qui est rouge. La réaction est catalysée et tamponnée par une solution de benzoate de caféine sodium.



L'azobilirubine rouge formée est aussitôt transformée en azobilirubine de couleur bleue par l'acide d'un alcali permettant le dosage photométrique à 600 nm.



2.3.4.2. Réactifs

Ils sont utilisés uniquement dans le diagnostic *in vitro*.

2.3.4.2.1. Réactif de caféine

Il contient la caféine et le benzoate de sodium en tampon acétate, à pH 6,9, avec des agents de conservation non réactifs.

2.3.4.2.2. Réactif Fehling

Il contient l'hydroxyde de sodium.

Précaution : c'est un réactif caustique dont il faut éviter l'ingestion

ou le contact avec la peau.

2.3.4.2.3. Réactif acide sulfanilique

Il contient 28 mmol/l d'acide sulfanilique, d'acide chlorhydrique, et un antiseptique non réactif.

Précaution

C'est un réactif acide dont il faut éviter l'ingestion ou le contact avec la peau et les yeux.

2.3.4.2.4. Nitrite de sodium

Il contient 0,36 mol/l de nitrite de sodium.

2.3.4.2.5. Conservation

Ils sont stockés à la température de 20° C à 25° C. Lorsqu'ils sont conservés directement, ils vont rester stables jusqu'aux dates indiquées sur les étiquettes du produit. La composition de ces réactifs peut varier légèrement suivant les différents lots dans les limites de fabrication, cependant, cela n'a aucun effet néfaste sur les résultats du test.

2.3.4.2.6. Préparation du réactif

Pour préparer le réactif diazo, on ajoute 1 ml de nitrite de sodium à 150 ml du réactif d'acide sulfanilique et on mélange. N'importe quelle quantité peut être préparée aussi longtemps que cette proportion de nitrite de sodium et d'acide sulfanilique est maintenue. Ce réactif préparé est stable pour un travail journalier lorsqu'il est conservé sous réfrigération.

(voir tableau page suivante)

REACTIF DE TRAVAIL	PREPARATION	CONSERVATION	STABILITE
Caféine	(1) tel quel	20° C à 25° C	Date de péremption
Fehling	(2) tel quel	20° C à 25° C	Date de péremption
Acide sulfanilique	(3) tel quel	20° C à 25° C	Date de péremption
Nitrite	150 ml (3)+ 1 ml (4)	10° C à 14° C	un jour

2.3.4.2.7. Spécimen

On peut utiliser soit le sérum, soit le plasma comme spécimen. Puisque la bilirubine subit une photoxydation rapide pour passer à la bili-verdine lorsqu'elle est exposée à la lumière. L'échantillon est rapidement séparé du culot ou des cellules et testé dans un délai court. Si le test doit être différé, l'échantillon sera bien protégé de n'importe quelle exposition de lumière et conservé à une basse température. Les échantillons congelés conservés dans l'obscurité sont stables pendant trois mois, et ceux réfrigérés sont stables plusieurs jours.

2.3.4.2.8. Méthodologie du QUANTACHEM

P/N	T ₀₁	3012,56	Réactif caféine	6 x 480 ml
	T ₀₁	3013,56	Réactif de fehling	6 x 480 ml
	T ₂₁	3014,56	Acide sulfanilique	6 x 480 ml
	T ₂₁	3015,56	Nitrite de sodium	6 x 60 ml

2.3.4.2.9. Conditions de réalisation du test

(voir tableau page suivante)

REACTIF	CODE	LOCATION	STATION	VANNE	VOLUMES DISTRIBUES
Acide sulfanilique	R 1	E 1	03	01	0,1 ml
Diazo	R 2	F 8	04	17	0,1 ml
Cafeine	R 3	B 2	03	35	0,8 ml
Fehling	R 4	B 4	: 1 D	33	0,8 ml
Acide sulfanilique	R 5	E 1	03	01	2 ml
Diazo	R 6	F 8	04	17	2 ml

2.3.4.2.10. Mécanisme de la méthode

- . il prélève toutes les 6 secondes
- . il distribue 1,6 ml de réactif caféine à tous les tubes
- . il distribue 0,2 ml d'acide sulfanilique aux "tubes de blanc"
- . il distribue 0,2 ml de réactif diazo aux "tubes test"
- . mélange avec mélangeur 1 (150/750)
- . il distribue 1,6 ml de réactif de Fehling à tous les tubes
- . mélange avec mélangeur 2 (100/1050)
- . la sonde de transfert : elle transfère et lit à une vitesse de 6 secondes.

2.3.4.2.11. Standardisation

La calibration se fait avec deux standards de protéine basique aux taux de 5,13 à 171 $\mu\text{mol/l}$ de bilirubine. Les standards préparés dans le chloroforme ne sont pas recommandés, ainsi que les standards de chloroforme ajouté au sérum.

2.3.4.2.12. Contrôle de qualité

Exactitude et précision : on utilise les sérums de contrôle TqC qualité I et TqC qualité II dont on trouvera le détail dans le chapitre "Contrôle de qualité des dosages effectués sur le QUANTACHEM".

2.3.4.2.13. Tolérances

- . La méthode tolère une lipémie de 6,84 $\mu\text{mol/l}$
- . l'hémoglobine ayant un taux à 171 $\mu\text{mol/l}$ peut montrer une interférence légère négative.

2.3.4.2.14. Valeurs exigées

Chaque laboratoire doit avoir ses propres fourchettes de référence des valeurs normales.

2.3.4.2.15. Applications cliniques :

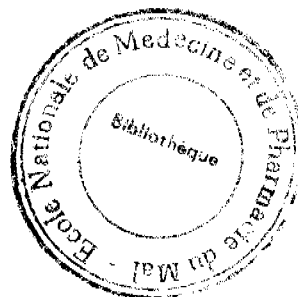
2.3.4.2.15.1. Variations physiologiques

2.3.4.2.15.1.1. Il y a augmentation de bilirubine chez le nouveau-né au cours des premiers jours après la naissance et chez les sujets non entraînés à haute altitude.

Chez le nouveau-né, selon DAUCHY :

- | | |
|----------------------------|-------------------------------|
| . 1er jour de la naissance | N = 3 à 49 $\mu\text{mol/l}$ |
| . 2ème " " | N = 0 à 103 $\mu\text{mol/l}$ |
| . 5ème jour " " | N = 2 à 205 $\mu\text{mol/l}$ |

Donc, après la naissance, le taux de bilirubine augmente progressivement et atteint son maximum aux 3^o et 4^o jours, ne s'effaçant qu'aux 8^o et 15^o jours pour arriver à des chiffres légèrement plus bas que ceux de l'adulte : 1,71 à 6,84 $\mu\text{mol/l}$.



2.3.4.2.15.1.2. La femme adulte a une bilirubine un peu inférieure à celle de l'homme au même âge, dans la vieillesse, les chiffres s'égalisent dans les deux sexes. La bilirubine de l'enfant est légèrement plus basse que celle de l'adulte.

2.3.4.2.15.2. Variations pathologiques

- . les hypobilirubinémies peuvent s'observer au cours d'hémorragies répétées et de certaines anémies ;
- . les hyperbilirubinémies, lorsqu'elles n'atteignent pas le chiffre de 34,20 μmol environ de bilirubine totale, ne s'accompagnent pas d'un changement visible dans la coloration des téguments. Il y a toujours ictère quand le taux de bilirubine totale est supérieur à 25,65 $\mu\text{mol/l}$. Entre 25,65 et 85,5 μmol , c'est l'ictère latent.

Taux > 85,5 μmol	→	un subictère
Taux > 136,80 μmol	→	un ictère franc
Taux > 171 μmol	→	un ictère intense qui est dangereux
Taux > 307,80 μmol	→	un ictère nucléaire correspondant à l'atteinte des centres nerveux

Les ictères se divisent en trois grands groupes :

- . les ictères hémolytiques qui s'accompagnent d'une destruction excessive de l'hémoglobine ;
- . les ictères par hépatite qui sont le plus souvent secondaires à une infection de la cellule hépatique;
- . les ictères par obstruction ou par rétention qui sont dus à un obstacle à l'écoulement de la bile dans le duodénum (calculs, bouchons muqueux, tumeurs) ; c'est au cours de ces derniers que les chiffres les plus élevés peuvent être atteints.

2.4. CHOLESTEROL ENZYMATIQUE

2.4.1. Rappels physiologiques

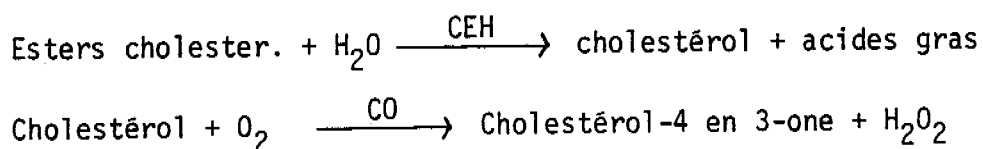
Le cholestérol sanguin a une source à la fois exogène (alimentaire) et endogène (tissus). Estérifié dans l'intestin, il existe à l'état de chilomicrons dans la circulation lymphatique pour arriver au foie, mais il ne passera dans la circulation que sous forme de lipo-protéines.

Le foie fabrique environ 3,096 mmol de cholestérol par jour, dont une partie est déversée dans la bile. Parallèlement à cette synthèse, le cholestérol est dégradé dans le foie sous la forme de sels biliaires. Il est éliminé dans les selles à l'état de coprostérol, dont l'origine n'est pas seulement biliaire (une partie venant du cholestérol alimentaire non absorbé par l'intestin, une autre étant excrétée par ce dernier).

Certaines substances favorisent l'élimination des stérols par la voie intestinale, les huiles végétales de maïs ou de tournesol en font partie, d'où leur effet hypocholestérolémiant.

2.4.2. Principe de la méthode chimique

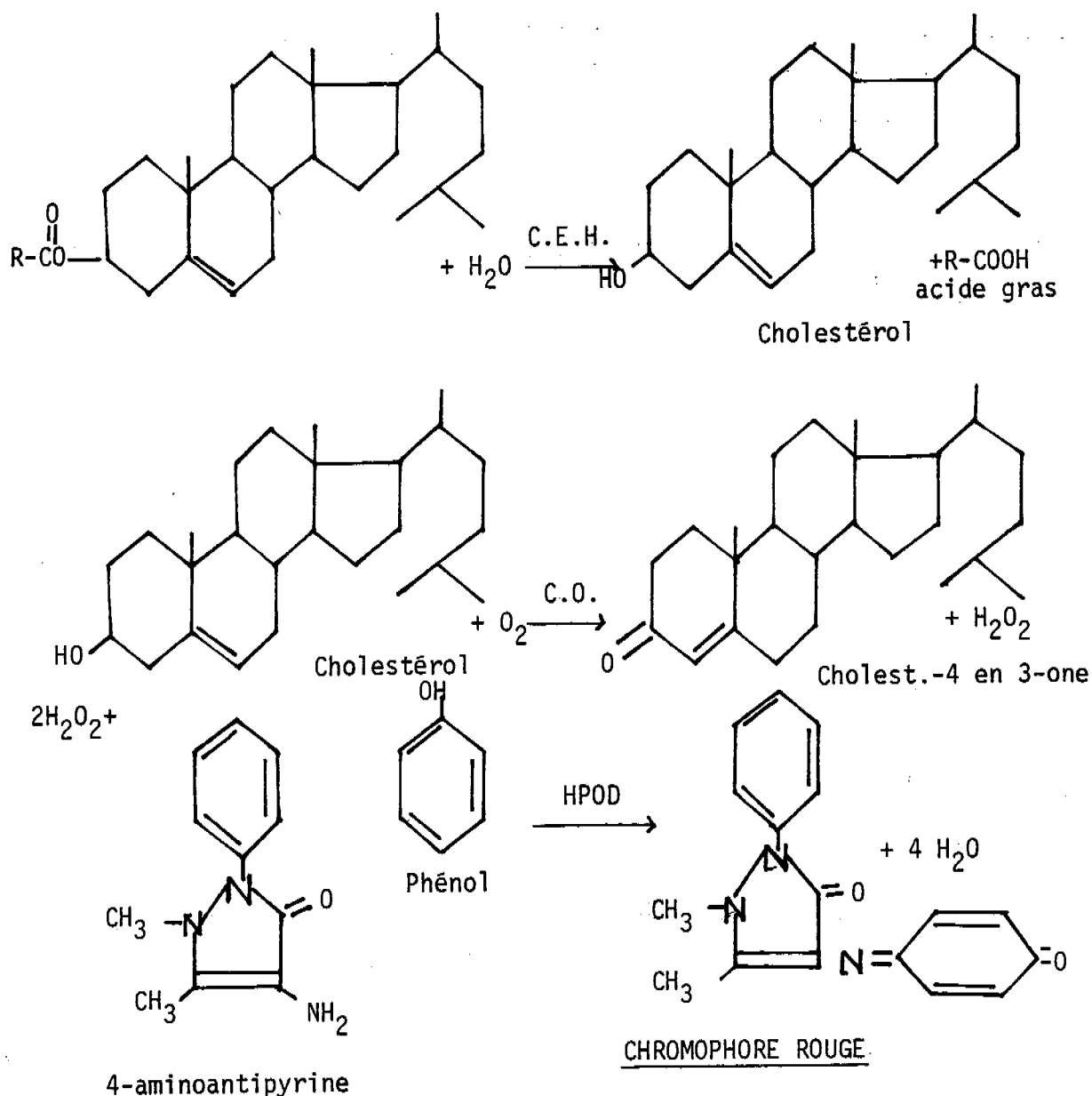
Le sérum humain contient un mélange de cholestérol libre et estérifié, les deux sont dosés pour déterminer le cholestérol total. Le sérum est incubé avec un réactif d'enzyme tamponné contenant le cholestérol (CEH) ester-hydrolase et la cholestérol-oxydase (CO). Le CEH transforme le cholestérol estérifié en cholestérol libre qui est ainsi oxydé par le CO pour transformer les cholestérol-4 en 3-one et le peroxyde d'hydrogène.



Dans une réaction interposée de peroxydase (POP), le peroxyde d'hydrogène réagit avec le 4-amino-antipyrine et l'acide 3,5-dibromo-p.hydroxybenzoïque pour former un chromophore rouge intense qui peut être dosé photométriquement à 500 nm.



Acide 3,5 dibromo-p.hydroxy-benzoïque



Avec le TECHNICON, les réactions enzymatiques se font complètement dans un petit volume après une incubation de 10 minutes. Un diluant est ajouté avant de mesurer l'intensité du chromophore indicateur.

2.4.3. Réactifs

Ils ne sont utilisés que dans le diagnostic *in vitro*.

2.4.3.1. Tampon

Il contient 1,8 mmol/l de 4-amino antipyrine en tampon phosphate à pH 7,2, avec un antiseptique et un activateur non réactifs.

A conserver à la température du réfrigérateur de 2°C à 8°C.

2.4.3.2. Chromogène

Il contient 210 mmol/l d'acide 3,5 dibromo-p. hydroxybenzoïque, diméthyl sulfoxyde, et de l'alcool dénaturé.

Précaution : la toxicité n'étant pas établie, il faut tout de même éviter l'ingestion ou le contact avec la peau. Conserver à la température du réfrigérateur de 2°C à 8°C.

2.4.3.3. Enzyme

Chaque fiole contient 18 unités de cholestérol oxydase (N.erythrophile), 17 unités de cholestérol estérase (microbien) et 2000 unités de peroxydase (RAIFORD).

A conserver à la température du réfrigérateur, 2°C à 8°C.

2.4.3.4. Diluant

Il contient des antiseptiques et le diméthyl sulfoxyde.

Précaution : Il est peu irritant, toutefois, il faut éviter le contact prolongé avec la peau. A conserver à la température de la salle, 20°C à 25°C. Si le produit est directement conservé, les réactifs resteront stables jusqu'à la date indiquée sur les étiquettes. La composition de quelques réactifs peut varier légèrement suivant les lots, de sorte que cela n'a aucun effet néfaste ou altérant sur les résultats du test.

2.4.4. Préparation du réactif

Pour préparer le réactif enzyme tamponné, on ajoute à un flacon (1) de 450 ml de Tampon les contenus entiers d'une fiole (2) d'enzyme et les contenus entiers d'un flacon de chromogène (3). Mélanger doucement par retournement.

Le réactif enzyme préparé est conservé sous réfrigération et protégé contre la lumière. Soigneusement conservé, ce réactif reste stable pour deux semaines.

Note : Il ne faut pas ajouter le chromogène à la fiole d'enzyme lyophilisé car ceci peut causer l'inactivation. Ajouter un à un au flacon de tampon.

REACTIF DE TRAVAIL	PREPARATION	CONSERVATION	STABILITE
Enzyme tamponné	(1)+ (2)+ (3)	2° C à 8° C	deux semaines
Diluant	(4) tel quel	20° C à 25° C	à la date de péremption

2.4.5. Specimen

Le sérum est le spécimen de choix, cependant le plasma hépariné peut aussi être utilisé. L'usage d'autres anticoagulants peut causer la réduction des taux de cholestérol à cause du déplacement d'eau des érythrocytes. Le cholestérol total est stable à la température de la salle pour 7 jours et plus d'un an s'il est conservé congelé (-20°C).

2.4.6. Conditions de réalisation du test

(voir tableaux page suivante)

TEST I D	25	NOMBRE DE PASSAGES	DEUX
Mode	Réactif blanc	Incubation programmée	10 minutes
Volume d'échantillons	12 μ l programmés	Température	37° C
Volume de diluant	100 μ l programmés	Filtre/longueur d'onde	10/500 nm
Standards	TgCl et TgCH	Vitesse de transfert	5 secondes

Un passage. Mélangeur 1 75/1050.

REACTIF	CODE	LOCATION	VANNE	STATION	VOLUME DISTRIBUE
Enzyme tamponné	R 1	G 1	9	05	0,8 ml
Diluant	R 2	A 2	22	05	0,8 ml
Enzyme tamponné	R 5	G 1	9	05	1,3 ml
Diluant	R 6	A 2	22	05	1,3 ml

Pré-purges.

2.4.7. Méthode du dosage

1er passage :

- . prélèvement toutes les 4 secondes
- . distribution de 1,5 ml de réactif enzyme tamponné
- . Mélange avec mélangeur 1 (50 sur /750)
- . Incubation pendant 10 minutes à 37°C

2ème passage :

- . distribution de 2,5 ml de diluant
- . sonde de transfert : elle transfère et lit toutes les 4 secondes

2.4.8. Standardisation

La méthode est calibrée à l'aide de deux standards au taux de 0,129 mmol et 0,645 mmol/l de cholestérol. Les standards préparés dans les solvants organiques ou acides ne sont pas recommandés. Les deux standards sont des protéines basiques disponibles dans le commerce (TgCl et TgCH).

2.4.9. Linéarité

La réaction est linéaire jusqu'à 1,29 mmol/l de cholestérol. Les spécimens avec les concentration de cholestérol dans les limites établies de linéarité doivent être dilués et retestés. Le résultat doit tenir compte du facteur de dilution.

2.4.10. Contrôle de qualité

Tous les laboratoires possèdent un programme de contrôle de qualité. Cependant, TECHNICON préconise ce qui suit :

- . un échantillon de concentration connue sera testé en dernier dans chaque essai. La valeur du test de l'échantillon et le numéro d'identification de l'échantillon doivent être vérifiés;
- . les deux sérums de contrôle : le faible et le haut doivent être retestés au cours de chaque test pour être sûr d'un résultat dans les limites acceptables : TqC qualité I et TqC qualité II ;
- . un enregistrement de pente, l'absorbance du standard, et celle du tube 4 de lavage. Ces renseignements utilisés par l'opérateur tous les jours donnent des indications sur la qualité des réactifs et des standards.

2.4.11. Limites

- . les taux élevés de bilirubine produisent une interférence positive sur le dosage du cholestérol ;
- . une interférence négative de l'ascorbate à un taux de 0,258 mmol/l a été observée ;
- . certaines substances provoquent une interférence négligeable, aux taux indiqués ci-dessous :
 - Bromure : 10 mEq/l
 - Glucose : 12,9 mmol/l
 - Urée : 0,155 mmol/l
 - Créatinine : 0,258 mmol/l
 - Acide urique : 1,29 mmol/l
- . une hémolyse modérée n'affecte pas significativement les résultats avec ce système de réactif.

2.4.12. Valeurs exigées

Chaque laboratoire doit établir ses propres fourchettes de valeurs normales dans les conditions du test. Les fourchettes normales suivantes sont fournies comme guides, et proviennent de l'analyse des résultats de 144 individus apparemment en bonne santé :

- . près de 30 ans : 2,064 mmol/l - 7,224 mmol/l
- . 30 - 50 ans : 3,87 mmol/l - 8,20 mmol/l
- . plus de 50 ans : 3,715 mmol/l - 8,93 mmol/l

2.4.13. Applications cliniques

2.4.13.1. Variations physiologiques

Le cholestérol augmente dans le sang, après l'ingestion de graisses,

et sous l'influence des hormones oestrogéniques naturelles (cycle menstruel, grossesse), et synthétiques (contraceptifs oraux). Au contraire, il descend au-dessous de la normale après l'accouchement ou après un régime pauvre en matières grasses (sans baisser physiologiquement en dessous de 3,1 mmol/l).

Chez le nourrisson et le jeune enfant, la cholestérolémie est d'autant plus faible que l'enfant est jeune.

Le cholestérol suit avec l'âge une courbe ascendante, le maximum se situant vers 55 ans, puis les chiffres normaux baissent dans la vieillesse, pour rester néanmoins supérieurs à ceux des sujets jeunes. Le cholestérol estérifié présente la même évolution, de sorte que le rapport d'estérification ne varie pas.

Le taux du cholestérol est sensiblement plus élevé chez l'homme que chez la femme de 30 à 50 ans, ce fait correspond à la période où l'activité oestrogénique est la plus forte. Les stress psychiques accroissent la cholestérolémie, alors que la relaxation tend à la diminuer.

2.4.13.2. Variations pathologiques

- . L'hypocholestérolémie se constate au cours d'infections aiguës (typhoïde, tuberculose), au cours de la maladie d'ADDISSON, des hépatites graves, toxiques ou infectieuses, la période terminale des cirrhoses, le rachitisme, l'hyperthyroïdie, les cachexies, les syndromes coeliaques, la sprue (jusqu'à 1,24 mmol et même 0,80 mmol).

Au-dessous de 1,20 g., elle peut entraîner des phénomènes d'hémolyse et être à l'origine d'anémies (certains cas d'anémie pernicieuse) ; les ictères hémolytiques s'accompagnent d'ailleurs d'hypocholestérolémie.

- . Il y a hypercholestérolémie quand le taux est supérieur à 0,67 mmol. Elle est souvent une réaction de défense hépatique

et non d'insuffisance, c'est ainsi que l'hypercholestérolémie (avec hyperprotidémie) des alcooliques chroniques est bien connue, et c'est seulement lorsque la cirrhose évolue vers les formes graves que le cholestérol s'effondre avec les protides. Il peut y avoir hypercholestérolémie favorable dans la convalescence des affections aiguës.

Le cholestérol est augmenté dans les ictères par rétention, alors qu'il est normal ou abaissé dans les ictères par hépatite. On peut l'observer aussi dans les troubles du métabolisme des lipides : athérome, athéromatose, obésité, diabète, au cours des dyslipidoses ; dans les troubles circulatoires : artérite, hypertension, dans les affections rénales : néphrite chronique, azotémie, néphrose lipoïdique, où les chiffres sont facilement élevés, dans les hypothyroïdies. Il existe encore dans les hyperlipémies héréditaires (hypercholestérolémie familiale héréditaire).

2.5. LES TRIGLYCERIDES ENZYMATIQUES

2.5.1. Rappels physiologiques

Les chilomicrons sont des particules de 0,3 à 1,5 micron de diamètre; cette taille explique leur caractère de diffraction de la lumière, ce qui donne au plasma sanguin l'aspect lactescent qui suit les repas. Leur origine est intestinale, par conséquent exogène.

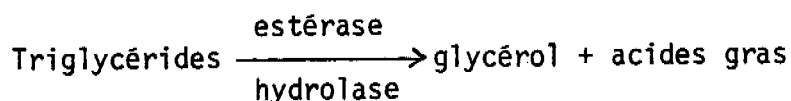
A jeun, dans un sérum limpide, il y a toujours quelques chilomicrons ; leur nombre est considérable dans les sérums lactescents. Après passage dans le torrent circulatoire, les chilomicrons vont subir l'action de la lipoprotéine lipase (facteur clarifiant), se dissocier, et les triglycérides qu'ils véhiculent sont hydrolysés au niveau du foie. Ce dernier élabore des lipomicros à base de triglycérides endogènes, qui sont repris par les tissus musculaires et périphériques. Ainsi, les chilomicrons transportent les triglycérides provenant de l'absorption

intestinale, et les lipomicros ceux synthétisés par le foie.

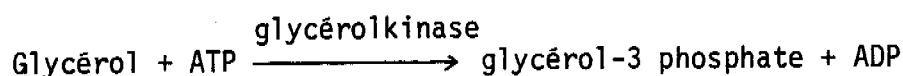
10 heures après un repas, le sérum d'un sujet normal doit être redevenu clair ; la disparition des chilomicros est plus lente chez le sujet âgé que chez le sujet jeune.

2.5.2. Principe de la méthode de dosage

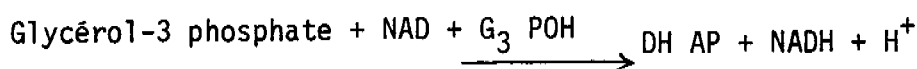
Les triglycérides sont hydrolysés enzymatiquement en glycérol et en acides gras libres en présence de lipase.



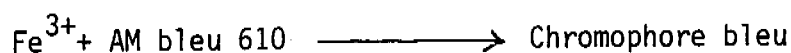
Le glycérol ainsi libéré est ensuite dosé par une série de réactions enzymatiques.



Le glycérol-3 phosphate est ensuite converti en dihydroxyacétone phosphate (DHAP) par le glycéro-3 phosphate déshydrogénase (G_3 PDH) avec la réduction concomittante de NAD en NADH.



Le NADPH à son tour est destiné à réduire l'excès d'ions ferriques par couplage avec AM bleu 610, marqué de 9 (2-pyridil) acénaphto-(1,2,e) as-triazine pour former une chromophore bleue intense absorbant au maximum à 610 nm.



Avec cette méthode, la sensibilité est augmentée de six fois. La diminution de la concentration en NADH est directement proportionnelle à la concentration en triglycérides.

2.5.3. Réactifs

Ils sont uniquement utilisés dans le diagnostic *in vitro*.

2.5.3.1. Tampon

Il contient 2 mmol/l de 9 (2 pyridyl) acénaphto-(1,2,e)-as triazine dans un tampon de Triéthanolamine à pH 9,4 avec un antiseptique non réactif.

Précaution

Une irritation est possible. Il faut éviter l'ingestion ou le contact prolongé avec la peau. Conserver sous réfrigération entre 2°C et 8°C.

2.5.3.2. Indicateur NADH

Il contient 47 µmol de méthosulfate de phénazine.

Précaution : Réactif photosensible.

A conserver sous réfrigération entre 2°C et 8°C.

2.5.3.3. Réactif ferrique

Il contient environ 19 mmol/l de sulfate ferrique dans une solution d'acide sulfurique.

Conserver sous réfrigération entre 2°C et 8°C.

2.5.3.4. Réactif NAD

Chaque fiole contient 4,4 mmol de NAD. S'il y a des moisissures dans la fiole, ne pas l'utiliser.

Conserver sous réfrigération entre 2°C et 8°C.

2.5.3.5. Réactif enzyme

Chaque fiole contient 1,8 mmol d'ATP, 66 unités de lipase (fongique),

300 unités de G₃ PDH (muscle de lapin), 28 unités de GK (fongique) avec sulfate de magnésium et des produits de conservation non réactifs, en tampon de triéthanolamine. S'il y a des moisissures dans la fiole, ne pas l'utiliser. Conserver sous réfrigération entre 2°C et 8°C.

Lorsque les réactifs sont utilisés tel quel, ils vont rester stables jusqu'aux dates indiquées sur les étiquettes de chaque produit.

La variation légère de lot à lot dans la composition du réactif n'a pas d'effet néfaste sur les résultats de test.

2.5.4. Préparation du réactif

- . Pour préparer le réactif indicateur de travail, on ajoute le contenu d'une fiole de réactif NAD et 4 ml de réactif ferrique dans un flacon d'indicateur NADH, et on mélange. Ce réactif préparé est stable pour un mois lorsqu'il est conservé sous réfrigération et à l'abri de la lumière.
- . Pour préparer le réactif enzyme, on reconstitue une fiole de réactif enzyme lyophilisé avec 50 ml d'eau désionisée, sans agiter. Ce réactif préparé est stable 5 jours lorsqu'il est conservé sous réfrigération.

REACTIF DE TRAVAIL	PREPARATION	CONSERVATION	STABILITE
Tampon	(1) tel quel	10 C à 14 C	A la date de péremption
Indicateur NADH	(2) + 4 ml (3) + (4)	10 C à 14 C flacon ambre	30 jours

2.5.5. Spécimen

Le sérum est le spécimen de choix, mais le plasma hépariné ou EDTA peuvent être également utilisés. L'échantillon du patient doit être collecté dans l'appareil qui est vide de glycérol. Il est à noter que le glycérol est utilisé comme un lubrifiant pour les bouchons sur quelques tubes vides utilisés pour la collecte de sang. Les triglycérides, dans le sérum ou le plasma conservés sous réfrigération, demeurent stables trois jours.

2.5.6. Conditions de réalisation du test

TEST ID	22	NOMBRE DE PASSAGES
Mode	Blanc réactif	Incubation programmée
Volume échantillon	15µl programmés	Température
Volume diluant	100µl programmés	Filtre / longueur d'onde
Standards	Standards TgCl et TgCH	Vitesse de transfert

Un passage mélangeur 1 100 sur /750.

REACTIF	CODE	LOCATION	VANNE	STATION	VOLUME DISTRIBUE
Enzyme	R 1	F 3	12	07	0,25 ml
Tampon	R 2	J 2	48	07	0,7 ml
Indicateur NADH	R 3	J 1	49	07	0,7 ml
Enzyme	R 4	F 3	12	07	2,5 ml
Tampon	R 5	J 2	48	07	2 ml
Indicateur	R 6	J 1	49	07	2 ml

2.5.7. Méthodes de dosage

1er passage

L'échantillonneur prélève toutes les 4 secondes

Distribution de 0,5 ml de réactif enzyme

Distribution de 1,5 ml d'indicateur NADH préparé

Distribution de 1,5 ml de tampon

Mélange avec mélangeur 1 (150 sur /750)

Incubation : 15 minutes à 37°C

2ème passage

Sonde de transfert : elle transfère et lit toutes les 4 secondes.

2.5.8. Standardisation

Elle se fait à l'aide de standards de protéine basique au taux d'environ 0,571 mmol à 2,355 mmol/l de triglycérides.

2.5.9. Linéarité

Sous les conditions précédentes, la méthode montre une linéarité de 57,1 mmol/l au moins de triglycérides.

2.5.10. Contrôle de qualité

On utilise les sérums de contrôle TqC qualité I et TqC qualité II pour déterminer la précision et l'exactitude de la méthode.

2.5.11. Valeurs exigées

Tous les laboratoires doivent établir leurs propres fourchettes de référence ou des valeurs normales qui se situent autour de 1,142mmol/l.

2.5.12. Applications cliniques

2.5.12.1. Variations physiologiques

- . selon l'âge et le sexe : le taux est plus élevé chez l'homme que chez la femme et chez l'adulte de plus de 50 ans ;
- . après le repas : augmentation nette de la triglycéridémie avec pic à la 6^e heure ;
- . pendant la grossesse : augmentation générale du taux des lipides sanguins mais surtout de la fraction des triglycérides qui peut atteindre et dépasser 3,426 mmol/l ;

2.5.12.2. Variations pathologiques

Les triglycérides représentent environ le sixième des lipides. Il y a augmentation considérable des triglycérides dans l'hyperlipémie essentielle. Il y a également augmentation dans : l'athérosclérose, les diabètes graves acidotiques, la pancréatite aiguë, l'éthylisme, les glycosénoses, cirrhose biliaire et obstruction des voies biliaires, traitements oestrogéniques et contraceptifs.

Troisième Partie

*

ÉTUDE DU CONTROLE DE QUALITÉ
DES DOSAGES BIOCHIMIQUES
EFFECTUÉS SUR LE "QUANTACHEM"

1 - GENERALITES SUR LES QUALITES DES DOSAGES BIOCHIMIQUES

Nous ne traiterons ici que ce qui peut nous servir dans le contrôle de qualité de la méthode choisie.

1.1. INTRODUCTION

Le choix d'une méthode au laboratoire ne doit pas être le fait du hasard, mais doit faire l'objet d'une réflexion approfondie, basée sur l'expérience et l'évaluation des critères de qualité de la méthode.

L'appréciation des qualités d'une méthode tient compte à la fois de l'évolution rapide des moyens analytiques et des connaissances physiopathologiques. L'évaluation des mesures réalisées sur les sérums de l'homme sain ou malade n'a pas seulement à tenir compte des qualités intrinsèques des mesures, mais aussi de leurs finalités. Ces évaluations doivent exprimer des grandeurs mesurables, en tenant compte des unités choisies pour chaque grandeur définie et en rapport avec des étalons caractéristiques et appropriés. De plus, il est nécessaire d'apprécier la fiabilité, la praticabilité et l'efficacité de chaque évaluation avant de procéder à l'interprétation des résultats analytiques, de replacer l'analyse dans le contexte particulier du malade, des variations physiopathologiques propres à sa maladie et des conditions particulières dans lesquelles a été réalisé le dosage.

De sorte que la méthode analytique doit être discutée en fonction de sa performance propre, de sa facilité d'emploi et de son aptitude à détecter l'anomalie physiopathologique recherchée.

Ainsi, le choix du QUANTACHEM et l'interprétation de ses résultats nécessite de la part du biologiste, un raisonnement, une appréciation de ses qualités fondamentales.

1.2. CRITERES D'UNE METHODE

1.2.1. Classification des observations

Toutes les valeurs numériques tombent dans l'une des deux catégories : constantes ou variables.

1.2.1.1. Constantes

Ce sont ces valeurs qui ne peuvent pas varier : c'est le cas des masses atomiques des isotopes, le nombre de centimètres correspondant au "pied anglais".

1.2.1.2. Variables

Il existe deux types de variables :

- . le premier est la variable discontinue. C'est le cas du nombre de décès des animaux d'une expérience ;
- . le second est la variable continue qui peut prendre n'importe quelle valeur dans les limites pratiques. C'est le cas, par exemple, du taux de glucose des personnes normales. En d'autres termes, toutes les mesures sont elles-mêmes des variables continues exposées elles aussi à des erreurs.

1.2.2. Qualités d'une méthode

Le contrôle dans le laboratoire médical doit permettre en tout temps d'éprouver l'exactitude, la spécificité, la précision et la reproductibilité de la presque totalité des méthodes d'analyse. Il a aussi pour but de faire un choix judicieux et une amélioration scientifique des méthodes d'analyse.

1.2.2.1. Distribution des variables

1.2.2.1.1. Distribution de fréquence

Si on pratique une grande série de mesures sur un même matériel (bilirubine totale, fer sérique, cholestérol triglycérides), on s'aperçoit que les résultats se répartissent symétriquement et avec une fréquence élevée autour d'une valeur moyenne. La dispersion des résultats peut être représentée graphiquement par une courbe en cloche ou courbe de "GAUSS", représentative de la loi de LAPLACE-GAUSS. La plupart des techniques statistiques sont basées sur cette hypothèse de GAUSS.

1.2.2.1.2. Paramètres d'une distribution

Ce sont des nombres qui permettent de la caractériser.

1.2.2.1.2.1. Moyenne

Elle est appelée aussi espérance mathématique.

L'échantillon de N mesures ne donne pas dans le cas général N valeurs distinctes mais seulement n, notées X_i (i variant de 1 à n), avec des fréquences respectives absolues N_i et relatives $\frac{N_i}{N} + F_i$.

La somme de définition $\bar{X} = \frac{\sum X}{N}$ (somme portant sur les N valeurs distinctes ou non de X) peut être remplacé par :

$$\bar{X} = \frac{N_1 X_1 + N_2 X_2 + \dots + N_n X_n}{N} = \sum_{i=1}^{i=n} N_i X_i$$

$$\text{avec } \sum_{i=1}^{i=n} N_i = N$$

La moyenne d'un échantillon est égale à la somme des valeurs distinctes prises par la variable, multipliées chacune par sa fréquence.

$$\bar{X} = \sum_{i=1}^{i=n} F_i X_i \quad \text{avec } \sum_{i=1}^{i=n} F_i = 1$$

La moyenne de l'échantillon \bar{X} est la meilleure estimation de m , moyenne vraie ou espérance mathématique de \bar{X} , à partir de cet échantillon. \bar{X} est tantôt $> m$, tantôt $< m$ selon les hasards de l'échantillonnage.

1.2.2.1.2.2. Intervalle de variation

Cette notion a été évoquée vers la fin du paragraphe précédent pour donner une première idée de la variabilité au niveau de l'échantillon. Cependant, ce paramètre, c'est-à-dire la moyenne, n'est pas très satisfaisant car il ne prend en compte, par définition, que les deux valeurs extrêmes de la variable, qui sont les plus singulières et les plus soumises au hasard. De plus, il ne nous indique pas la façon dont la valeur est distribuée à l'intérieur de l'intervalle.

Ainsi, avec le même intervalle de variation, une variable peut être très resserrée autour de sa moyenne, ou au contraire très dispersée. On peut plus facilement atteindre les valeurs extrêmes dans le second cas que dans le premier. Dans la distribution théorique, l'intervalle de variation peut être $(-\infty, +\infty)$, ce qui ne donne aucun renseignement sur la variabilité.

C'est la variance en moyenne du carré des écarts qui permettra de décrire la répartition des écarts à la moyenne, en les prenant pour compte pour donner une "moyenne". Elle permet de calculer les intervalles de confiance.

On écrit la variance :
$$\delta^2 = \frac{\sum (X-m)^2}{N}$$

où m est la moyenne vraie, et non celle de l'échantillon $N > 30$.

La racine carrée de la variance est l'écart-type S . L'écart-type d'une distribution normale est la distance le long de l'axe des X (valeurs trouvées), entre la moyenne (= maximum de densité de probabilité) et les points d'inflexion.

Selon la première définition, l'intervalle $m \pm S$ contient 68% des observations dans une distribution normale ; l'intervalle $m \pm 2S$, 95%.

L'intervalle $m \pm 2,6 S$, 99% ; l'intervalle $m \pm 3,3 S$, 99,9%. Plus S est petit, plus les observations sont resserrées autour de la moyenne : l'écart-type est donc défini comme un paramètre de variabilité, chacun des intervalles de confiance incluant un pourcentage plus ou moins important des observations, alors que l'intervalle de variation en inclut 100%.

L'estimation correcte de la variance de la population à partir de l'échantillon est :

$$S^2 = \frac{\sum (X - \bar{X})^2}{N-1}$$

(N-1) est appelé le nombre de degrés de liberté. Dans la pratique, on obtient $N < 30$.

$$\sum (X - \bar{X})^2 = \sum X^2 - N \cdot \bar{X}^2 \quad \text{avec} \quad \sum X = N\bar{X}$$

La somme des carrés des écarts à la moyenne de l'échantillon est égale à la somme des carrés des observations moins N fois le carré de la moyenne d'échantillon.

$$S = \sqrt{\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{N-1}}$$

Donc, il importe de connaître la moyenne et l'écart-type qui exprime l'importance de la dispersion autour de la moyenne.

Le coefficient de variation est l'expression en valeur relative de l'écart-type

$$CV = \frac{S}{\bar{X}} \times 100$$

Ces paramètres nous donnent des informations sur l'exactitude et la précision d'une méthode.

1.2.2.2. Exactitude

Elle consiste à comparer les résultats obtenus avec les valeurs réelles (appelées aussi valeurs exactes).

Cette détermination de l'exactitude est aisée lorsque tout d'abord, on dispose d'étalons dont la valeur conventionnellement vraie est connue, ensuite lorsque la précision de la méthode est telle que la mesure de l'exactitude n'est pas gênée par l'amplitude des erreurs fortuites, enfin lorsque l'inexactitude relative est constante, dans la zone des valeurs considérées.

L'évaluation de la valeur vraie est souvent difficile, voire impossible en chimie clinique. On peut toutefois comparer les mesures affectées par la méthode en question avec celles obtenues par une méthode de référence acceptable.

L'exactitude d'une analyse clinique est très souvent une caractéristique qui dépasse le contrôle de l'analyste. Des méthodes variées pour déterminer la même substance peuvent donner des résultats différents dus aux différences dans la spécificité.

1.2.2.3. Précision

Elle est définie par la concordance des résultats d'une ou de plusieurs séries de mesures effectuées sur le même échantillon, dans des conditions constantes et déterminées.

En d'autres termes, c'est la reproductibilité de ce qui est observé. Plus la variation observée est petite, plus la précision est bonne. L'exactitude et la précision sont indépendantes l'une de l'autre. Un test d'inexactitude peut être très précis.

Le test idéal possède à la fois une grande exactitude et une grande précision. La précision est ordinairement exprimée par la déviation standard et elle peut être déterminée pour chaque méthode de test.

On la détermine à partir des dosages répétés sur un seul échantillon en calculant la moyenne et la déviation standard.

La précision est dite acceptable lorsque sa valeur reste à l'intérieur des limites de confiance, établies sur des bases statistiques et choisies en fonction des performances par rapport aux critères d'efficacité.

2 - ETUDE DU CONTROLE DES DOSAGES EFFECTUES AU QUANTACHEM

2.1. MOYENS DE CONTROLE

Un contrôle total, quoique théoriquement concevable, est pratiquement irréalisable à cause de son coût élevé, parce qu'il exige de trop grandes quantités d'échantillons et surtout parce qu'il prend assez de temps.

Les dosages effectués sont illustrés par des graphiques visualisés sur l'écran et automatiquement imprimés sur papier. Dans chaque essai, nous voyons au dessous du graphe : le ou les concentrations des standards fixés, les absorbances des tubes de lavage 1, 2, 3 et 4 qui doivent avoir approximativement les mêmes valeurs. Des valeurs très différentes sont révélatrices d'erreurs dues aux réactifs.

Nous observons aussi l'absorbance du tube 4, dont le coefficient de variation doit être très faible ; l'absorbance interceptée, la déviation standard et la moyenne des normales ; à gauche du graphe se trouvent les absorbances de standard, et les concentrations trouvées des échantillons. Sur le graphe, on observe les limites de confiance et la courbe de standard ainsi que la dispersion des valeurs trouvées, qui peuvent être soit à l'intérieur, soit à l'extérieur.

Le graphe pour chacun des tests ne nous donne pas globalement assez de satisfaction sur le contrôle de qualité des dosages. Pour cela, nous ferons appel à des procédés statistiques, en déterminant la moyenne générale des résultats obtenus pour chacun des paramètres choisis (fer sérique, bilirubine totale, cholestérol et triglycérides) et l'écart-type. Les ordonnées représenteront le nombre des mesures et les abscisses des valeurs trouvées. On considère les résultats obtenus au début de l'observation comme représentatifs de la valeur recherchée.

Tout résultat obtenu par la suite, doit se trouver à l'intérieur de l'intervalle de confiance, \bar{X} représentant la meilleure estimation de la valeur vraie pour les standard ou les contrôles, $\pm 3 S$ les limites de confiance.

2.2. UTILISATION DES STANDARDS DANS LE CONTROLE DE QUALITE DE LA TECHNIQUE

L'amélioration de la qualité des analyses pratiquées en biologie clinique ainsi qu'une meilleure standardisation des techniques sont étroitement dépendantes des procédés d'étalonnage utilisés dans les différents laboratoires.

Les problèmes d'étalonnage sont souvent liés à la technique utilisée. De nombreux auteurs ont insisté sur les erreurs qu'introduit l'utilisation du sérum de contrôle pour l'étalonnage des diverses techniques, par le fait que les titres annoncés pour une technique donnée sont des titres moyens entachés d'une erreur chiffrée par la variance globale obtenue pour la détermination de ce titre moyen. Cette variance tient compte en particulier des incertitudes introduites par la qualité de l'étalon primaire, les réactifs, le matériel et les appareils de mesure, du travail effectué, ainsi que d'autres paramètres difficilement contrôlables comme par exemple la photosensibilité de certaines réactions. Ainsi, il paraît indispensable de standardiser l'étalonnage afin que la référence utilisée par chaque laboratoire soit universelle et reproductible. Les standards permettent la vérification de la précision de l'appareil.

Les standards ainsi utilisés dans les dosages des quatre paramètres étudiés au cours de ce travail sont :

- . les standards I et II
- . le TQC standard TgCl
- . le TQC standard TgCH.

2.2.1. Les standards I et II

Ce sont des protéines basiques lyophilisées, utilisées uniquement dans

le diagnostic *in vitro* de la bilirubine totale, du fer sérique, la capacité de fer, la créatinine, le magnésium et la bilirubine directe. Il permet la calibration de l'analyse automatique quantitative dans les liquides biologiques.

La concentration exacte de chaque constituant est contrôlée par pesée d'une fraction de sérum albumine basique préparée dans ce but. Le matériel de référence est ensuite lyophilisé dans des conditions contrôlées pour garantir le maximum de stabilité. Son comportement est identique à celui des étalons préparés avec des substances en provenance du "National Bureau of Standard" des Etats-Unis. Les pourcentages de calcium, de créatinine et d'acide urique sont ainsi établis.

Note Il existe aussi les Standards EE et NE, qui sont aussi des protéines basiques lyophilisées pour d'autres dosages.

2.2.2. Standards TgCl et TgCH

Ils permettent la calibration de l'analyse automatique quantitative des triglycérides et du cholestérol et ne sont utilisés que dans le diagnostic *in vitro*. Ils contiennent du cholestérol libre, estérifié, et des triglycérides partiellement hydrolysés pour assurer l'uniformité et la stabilité de la solution. Ce sont des protéines basiques spécialement préparées, qui fonctionnent dans les systèmes de test enzymatiques, et des triglycérides, même avec une perte d'activité lipasique. Par conséquent, au cours de chaque test, on doit associer un système de contrôle approprié.

2.3. UTILISATION DES SERUMS DE CONTROLE POUR L'EXACTITUDE ET LA PRECISION

2.3.1. Intérêt du contrôle en biochimie clinique

Depuis quelques années, de nombreux auteurs ont insisté sur la nécessité d'améliorer la qualité des analyses effectuées au laboratoire. Leurs efforts portent actuellement sur deux points :

2.3.1.1. 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.

2.3.1.2. Contrôle de qualité inter-laboratoires permettant d'envisager une standardisation des techniques. De nombreux appareils et réactifs mis à la disposition des laboratoires d'analyse ont contribué à cet effort de standardisation soit au niveau des techniques, soit au niveau de l'étalonnage, soit au niveau de la qualité du produit obtenu. La notion d'incertitude accompagnant chaque résultat et chiffrée par une variance globale, s'est surtout développée avec l'apparition des appareils automatiques avec lesquels un contrôle statistique est plus rigoureux qu'en analyse manuelle, du fait de la plus grande standardisation des paramètres intervenant sur le résultat final.

2.3.2. Rôle du laboratoire

→ Il doit contrôler la validité de la technique choisie pour l'analyse. La rapidité d'exécution de l'analyse manuelle ou automatique ne doit pas faire passer au second plan les qualités essentielles d'une technique, telles que la reproductibilité, la linéarité et la spécificité. Elle doit être testée par rapport à une technique de référence suffisamment éprouvée, y compris dans les cas pathologiques. Par conséquent, il est souhaitable que les techniques commercialisées en réactifs prêts à l'emploi soient situées par rapport à ces techniques de référence, et que leurs performances soient clairement définies au niveau des interférences possibles.

→ Le laboratoire doit contrôler la validité des réactifs utilisés pour exécuter la technique choisie. Un étalonnage défectueux, la mauvaise qualité des substances chimiques utilisées pour préparer les réactifs, une mauvaise conservation de ces réactifs, peuvent conduire à des résultats faux. Les réactifs prêts à l'emploi donnent, par leur standardisation, une garantie certaine.

- Le laboratoire doit contrôler la validité du processus opératoire utilisé pour exécuter la technique choisie.

La sensibilité toujours améliorée des réactions utilisées en chimie clinique permet de diminuer la prise d'essai et de travailler sur des traces de l'élément à doser. Pour cela, le résultat de l'analyse devient de plus en plus dépendant des contaminations pouvant souiller la verrerie ou le matériel utilisé. Il s'ensuit parfois des résultats aberrants, variables pour une même analyse d'une expérimentation à l'autre, d'un laboratoire à l'autre. L'utilisation de réactifs prêts à l'emploi et de solutions de contrôle titrées et adaptées à ces réactifs permet, en général, de déceler des erreurs toujours possibles.

2.3.3. Moyens de contrôle

2.3.3.1. Sérums titrés

De par les garanties entourant les valeurs annoncées, les solutions de contrôle titrées permettent au laboratoire un contrôle global d'une technique donnée portant sur les qualités des réactifs, des appareils utilisés, du travail effectué. Ceci peut mettre en évidence une anomalie qu'il faudra ensuite localiser. L'usage de réactifs prêts à l'emploi et les valeurs annoncées pour ces réactifs pour une solution de contrôle titrée, quand on utilise ces réactifs, permet un contrôle plus fin, en l'absence de contamination du processus expérimental, du bon fonctionnement des appareils de lecture, du travail de l'expérimentateur. Donc, les sérums de contrôle permettent de vérifier qu'une technique manuelle ou automatique donnée est utilisée de façon satisfaisante au laboratoire.

2.3.3.2. Remarque

Utilisation de sérums de contrôle non titrés : il n'y a aucun chiffre annoncé dans les notices des sérums de contrôle non titrés. Ces sérums 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 savoir que l'on n'obtient aucune information sur la qualité de la technique ou des réactifs utilisés ni sur l'exactitude de l'étalonnage.

2.3.3.2.2. Contrôle de qualité en enzymologie

Le contrôle d'exactitude en enzymologie consistera essentiellement pour le laboratoire à vérifier que, dans les conditions où il travaille, ses résultats sont compatibles avec ceux qu'annonce le fabricant sur un sérum de contrôle titré par des réactifs donnés.

Les récentes expériences de contrôle de qualité en enzymologie cinétique ont permis de mettre en évidence le comportement parfois différent des sérums de contrôle par rapport à un pool de sérums frais, soit vis-à-vis des réactifs commercialisés de différentes marques, soit vis-à-vis de différentes techniques. Ainsi en enzymologie pour le contrôle de l'exactitude, il faut utiliser le sérum de contrôle titré par les réactifs utilisés. Par contre, le contrôle de la reproductibilité pourra se faire sur un sérum de contrôle non titré d'origine humaine ou animale.

Il est très important de respecter scrupuleusement les indications du fabricant pour l'utilisation des sérums de contrôle titrés.

2.3.3.3. Sérums de contrôle utilisés dans les dosages effectués sur le QUANTACHEM

2.3.3.3.1. TQC qualité I

C'est un sérum de contrôle humain normal préalablement testé, permettant le contrôle d'exactitude et de précision des méthodes. Il est présenté sous forme de lyophilisat et n'est utilisé que dans le diagnostic *in vitro*. La valeur appropriée de chaque constituant est obtenue par des analyses multiples utilisant le système de réactifs du QUANTACHEM. Ces valeurs sont utilisées statistiquement. Les fourchettes des valeurs pour chaque paramètre tiennent compte des déviations standards des méthodes chimiques

ou sont établies par la formule de TONK qui estime que les limites doivent être déterminées en fonction de la zone normale.

$$[2, 10] \text{ limite tolérable (en \%)} = \frac{1/4 \text{ zone normale}}{\text{moyenne valeur normale}} \times 100$$

Si la moyenne arithmétique des essais multiples tombe en dehors de cette fourchette des normales, l'intégrité des réactifs et des standards, ainsi que les performances de l'appareil, seront vérifiées. La fourchette des normales doit être scrupuleusement respectée car elle est obtenue dans les mêmes conditions que les valeurs du contrôle.

2.3.3.3.2. TQC qualité II

C'est un sérum de contrôle anormal d'origine humaine dont les constituants ont des valeurs pathologiques.

Note : Pour les standards, les qualités de la techniques sont exprimées en fonction des absorbances, les concentrations étant fixées. Pour les sérums de contrôle, les qualités du dosage sont exprimées en concentration.

2.3.4. Erreurs au cours des dosages

Le contrôle de qualité doit tendre à déceler, à corriger, à réduire et si possible même à éviter les erreurs qui peuvent être soit systématiques, soit fortuites, soit grossières.

Entre la demande d'analyse par le médecin et la livraison des résultats par le laboratoire, ces erreurs peuvent se produire à tous les niveaux lors du prélèvement, du transport, de la conservation, du traitement des échantillons au cours de l'exécution des analyses. Il faut aussi savoir qu'à chacun de ces différents stades peut se commettre une confusion d'échantillon ou de chiffre.

2.3.4.1. Erreurs systématiques

Elles sont caractérisées par une déviation de tous les résultats dans une même direction. Elles peuvent s'infiltrer progressivement ou survenir subitement à la suite de l'altération d'un étalon ou d'un réactif, de l'emploi d'un étalon impur, de la dérive d'un appareil automatisé, d'une variation de la température d'un bain thermostatisé. Beaucoup d'erreurs systématiques peuvent être évitées. Il existe cependant des facteurs encore incontrôlables qui influencent la qualité des résultats par action sur la spécificité absolue d'une méthode ou de la cinétique d'une réaction chimique.

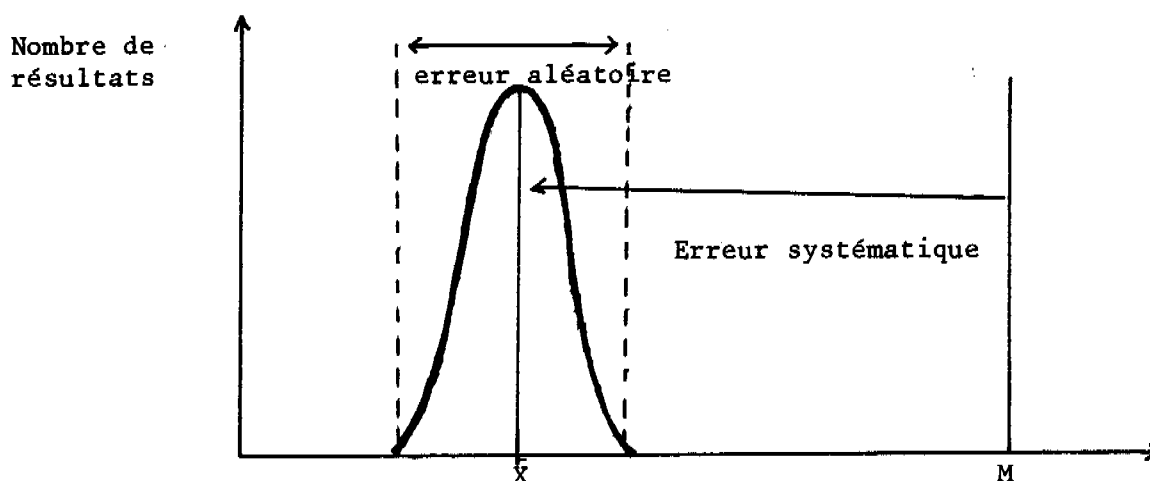


Figure 2 - Erreur aléatoire et erreur systématique

2.3.4.2. Erreurs fortuites

Elles consistent en une dispersion symétrique des résultats autour d'une valeur moyenne selon la courbe de GAUSS, c'est-à-dire que le nombre des valeurs inférieures et celui des valeurs supérieures à cette moyenne est pratiquement égal. Elles sont essentiellement produites par des imprécisions de mesure lors de l'emploi de pipette ou de burette. De par leur nature, les faibles erreurs fortuites sont impossibles à éviter. Les erreurs fortuites importantes, par contre, plus rare, et qui sont souvent la conséquence d'un manque d'habileté ou de soin de la part de l'opérateur, ou qui sont dues à la grande instabilité d'un appareil de mesure, peuvent être en partie décelées et corrigées.

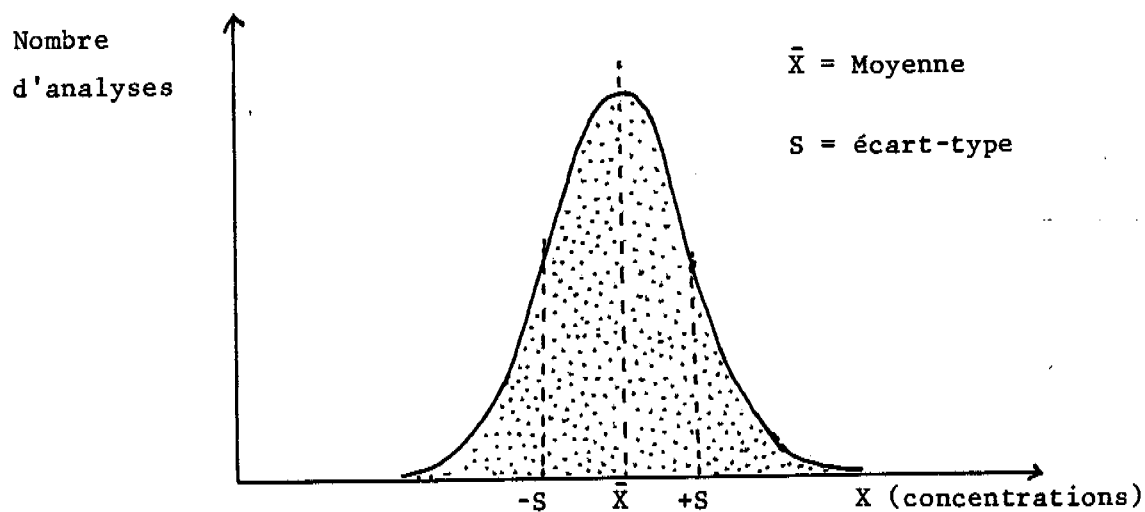


Figure 3 - Courbe de dispersion des erreurs fortuites

2.3.4.3. Erreurs grossières

Elles sont en général dues à l'inattention et la négligence. Elles devraient être évitées. Parmi les erreurs grossières les plus communes, citons :

- . les confusions d'échantillon, d'étalon ou de réactifs, de pipettes,
- . les mauvaises conditions de conservation des échantillons.

La fréquence des erreurs grossières augmente avec le nombre d'analyses.

3 - TRAITEMENT DES RESULTATS DE DOSAGES PRATIQUES SUR LE QUANTACHEM (travaux personnels)

3.1. INTRODUCTION

Dans ce chapitre, nous traitons des résultats expérimentaux obtenus dans les dosages du fer, de la bilirubine totale, du cholestérol, et des triglycérides.

Ce travail nous a permis d'étudier pour chacune des chimies concernées, la reproductibilité, l'exactitude et la précision de la technique, à la fois sur des pools de sérum de malades et sur des sérums de contrôle, à partir de l'écart-type et du coefficient de variation.

Les valeurs numériques nous ont permis de calculer les limites de confiance de chacune des méthodologies étudiées.

Les résultats ont été représentés sous la forme classique d'une courbe de GAUSS. Cette représentation graphique nous donne rapidement une idée de la dispersion des résultats. Les valeurs représentées sur le graphe sont des valeurs nettes (corrigées du blanc réactif).

3.2. CONTROLE DE LA TECHNIQUE A PARTIR DES STANDARDS

3.2.1. Fer sérique

3.2.1.1. Tableau des absorbances du Standard II et commentaire (valeurs recueillies sur plusieurs jours et plusieurs essais).

Valeur programmée de la concentration du Standard II : c'est une valeur fixe pour toutes les analyses du fer. Elle est égale à 72,5 mmol/l.

NUMEROS D'ANALYSES	ABSORBANCES
1	0,2448
2	0,2424
3	0,2252
4	0,2225
5	0,2236
6	0,2254
7	0,2165
8	0,2009
9	0,2000
10	0,2139
11	0,2139
12	0,2015
13	0,2017
14	0,2245
15	0,2263
16	0,2274
17	0,2252
18	0,2139
19	0,2021
20	0,2055
21	0,2036
22	0,2037
23	0,2225
24	0,1988
25	0,2393
26	0,2400
27	0,2401
28	0,2415
29	0,2414
30	0,1979

TABLEAU 1

DOSAGE DU FER SERIQUE

GRAPHIQUE DE CONTROLE

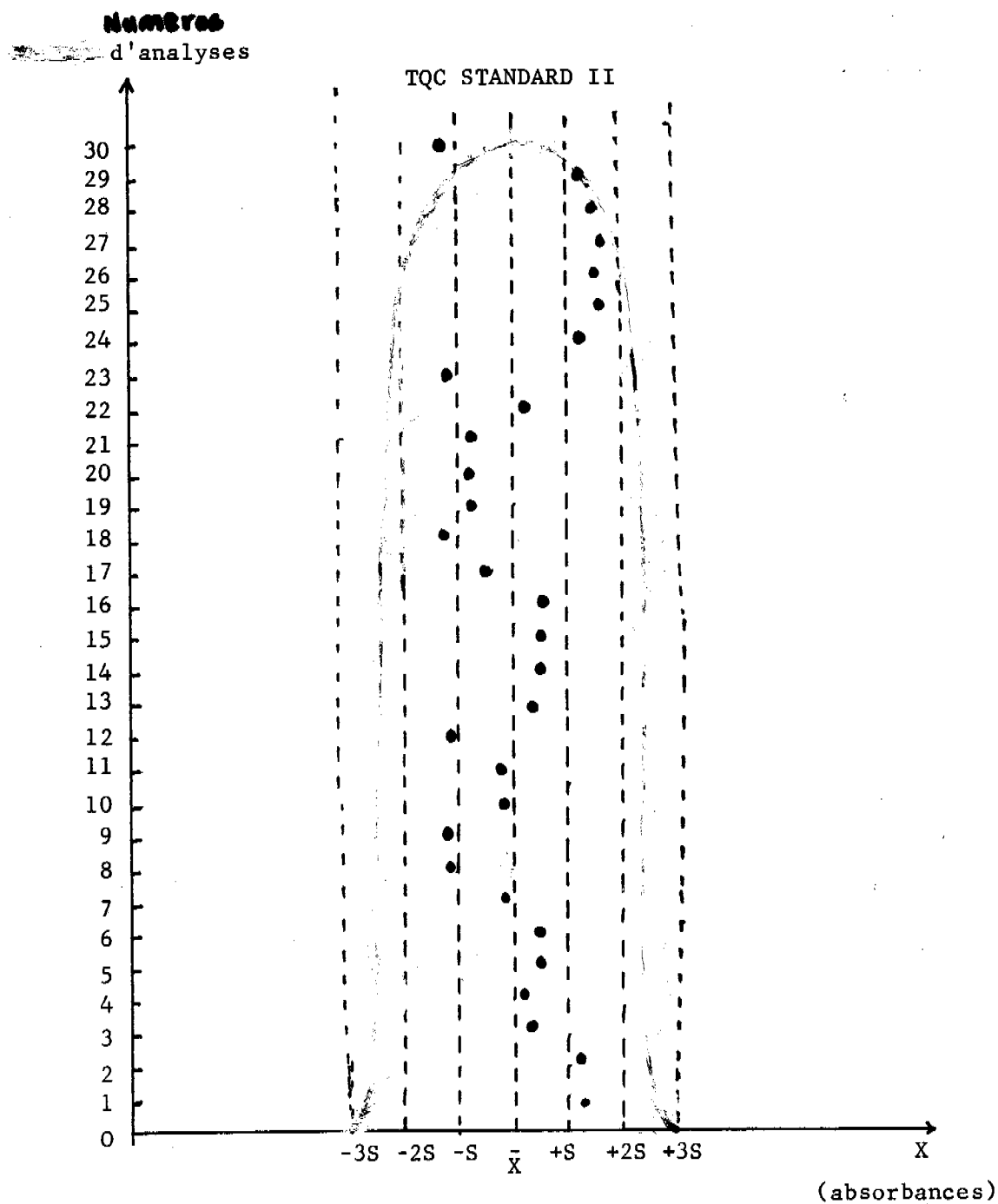


FIGURE 5

Courbe des absorbances du fer sérique.

\bar{X} = moyenne des valeurs individuelles

S = écart-type

TABLEAU 2
DOSAGE
DE LA
BILIRUBINE TOTALE

NUMEROS D'ANALYSES	ABSORBANCES
1	0,0897
2	0,0879
3	0,0828
4	0,0815
5	0,0868
6	0,0915
7	0,0913
8	0,0907
9	0,0909
10	0,0915
11	0,0924
12	0,0934
13	0,0930
14	0,0910
15	0,0899
16	0,0929
17	0,0921
18	0,0909
19	0,0905
20	0,0916
21	0,0909
22	0,0910
23	0,0916
24	0,0921
25	0,0929
26	0,0890
27	0,0924
28	0,0851
29	0,0914
30	0,0940

GRAPHIQUE DE CONTROLE

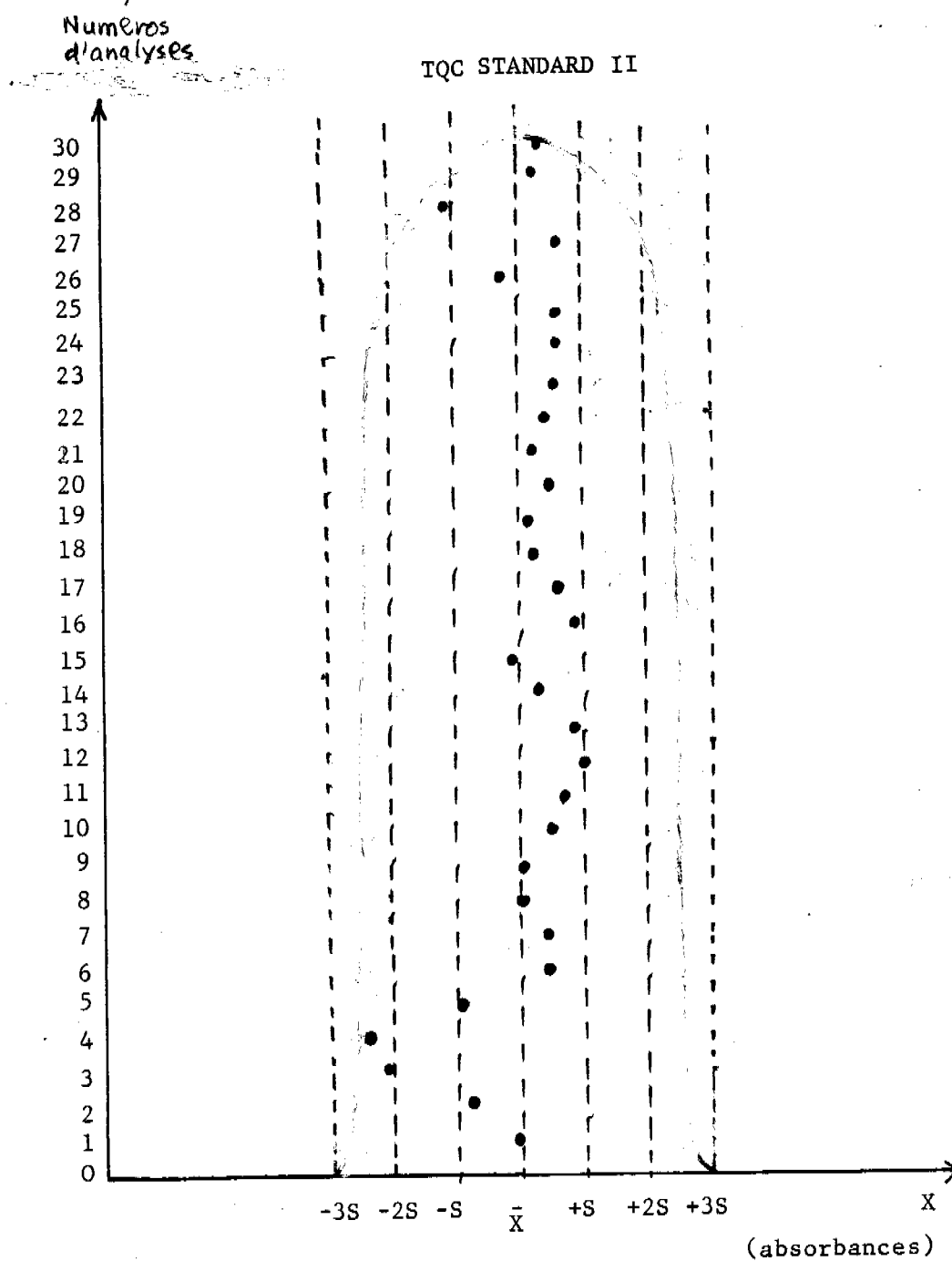


FIGURE 6

Courbe des absorbances de la bilirubine totale

\bar{X} = moyenne des valeurs individuelles

S = écart-type

$$\begin{array}{l} \bar{X} = 0,0907 \quad) \\ S = 0,0028 \quad) \\ S_R = 0,0313 \quad) \end{array} \quad \underline{CV = 3,13\%}$$

$$2S = 0,0056$$

$$3S = 0,0084$$

. Tous les points représentatifs des dosages sont situés à l'intérieur de l'intervalle $\bar{X} \pm 3 S$. Donc, cela est provisoirement un bon signe.

. Les points 1, 2, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 29, 30, sont à l'intérieur de l'intervalle $\bar{X} \pm S$, ils sont corrects.

. Le point 28 se trouve dans l'intervalle $[-S, -2 S]$; il est correct également.

. Les points 3 et 4 se situent dans l'intervalle $-2 S, -3 S$. Ils sont valables, mais c'est un signe d'alarme incitant à revoir tous les facteurs sur lesquels on peut agir ou qui ont été modifiés.

. Le coefficient de variation, d'après les calculs:(3,13%) est inférieur à 5. Donc, la précision est bonne. Par contre, une dispersion raisonnable et compatible avec l'erreur limite admissible qui est égale à la moitié de l'écart-type obtenu pour déterminer l'intervalle des valeurs normales.

3.2.3. Cholestérol enzymatique

3.2.3.1. Tableau des absorbances des Standards TgCl et TgCH

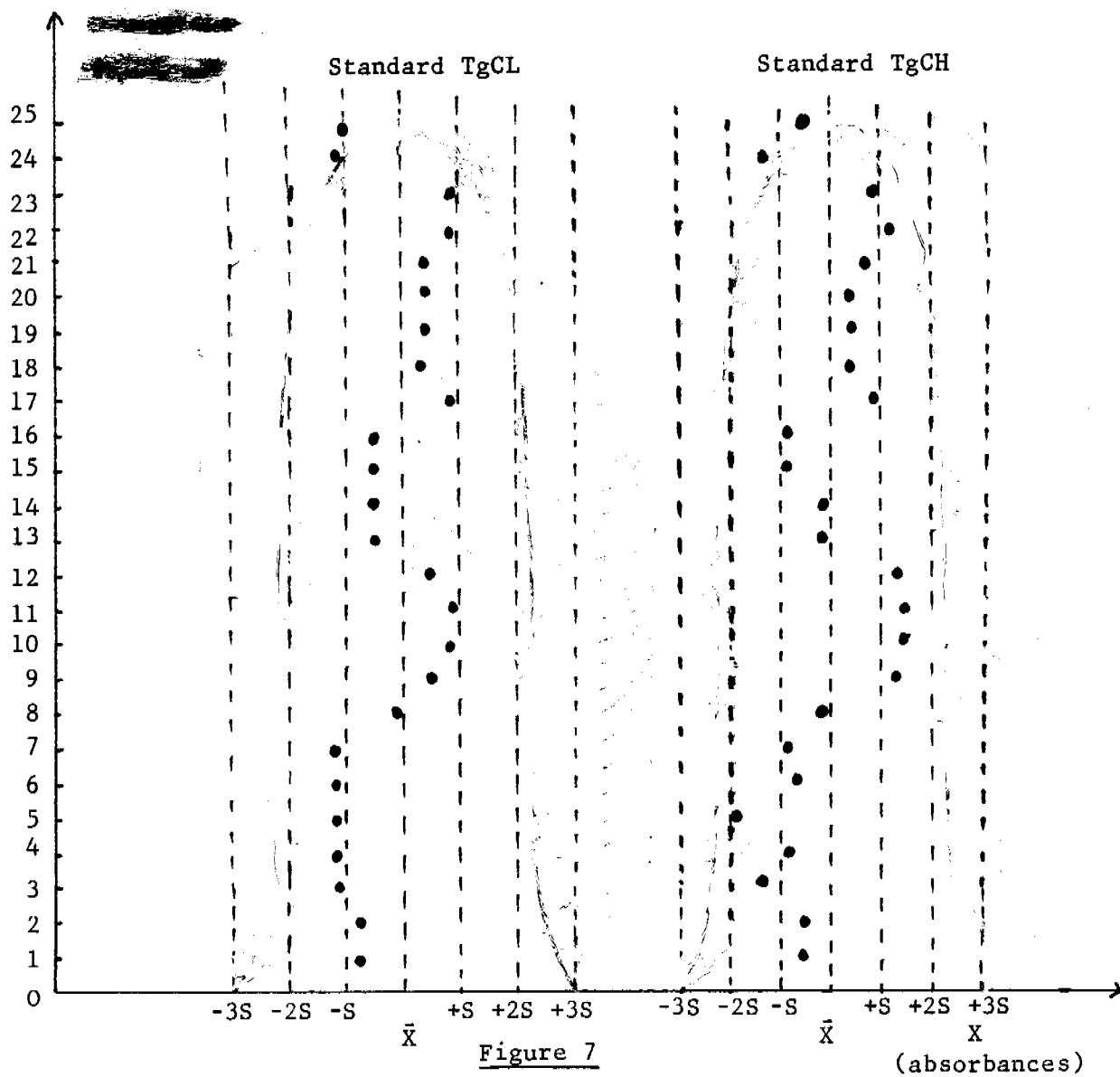
(voir tableau page suivante)

NUMEROS D'ANALYSES	ABSORBANCES STANDARD TgCI	ABSORBANCES STANDARD TgCH
1	0,0986	0,2462
2	0,0970	0,2466
3	0,0908	0,2255
4	0,0909	0,2366
5	0,0901	0,2193
6	0,0927	0,2429
7	0,0907	0,2369
8	0,1120	0,2519
9	0,1401	0,2859
10	0,1469	0,2909
11	0,1509	0,2910
12	0,1406	0,2884
13	0,1074	0,2559
14	0,1074	0,2531
15	0,1077	0,2370
16	0,1063	0,2374
17	0,1475	0,2788
18	0,1356	0,2687
19	0,1357	0,2651
20	0,1368	0,2656
21	0,1355	0,2697
22	0,1466	0,2810
23	0,1478	0,2770
24	0,0787	0,2255
25	0,0892	0,2355

TABLEAU 3
DOSAGE DU CHOLESTEROL

GRAPHE DE CONTROLE

numéros d'analyses



Courbe des absorbances du cholestérol

\bar{X} = moyenne des valeurs individuelles

S = écart-type

conditions de reconstitution ou d'utilisation, et éventuellement en changer.

- . TgCH : ~~Les résultats des 25 déterminations sont classés dans le tableau 4.~~ Tous les ^{points} ~~points~~ se situent dans l'intervalle de confiance. ~~Seuls les points qui ont une erreur relative, inférieure à 10%, sont retenus dans le tableau 4.~~

Les ~~points~~ points situés dans l'intervalle $\bar{X} \pm 2 S$ sont corrects. Le coefficient de variation, inférieur à 10%, indique que la méthode pour cette chimie est acceptable.

3.2.4. Triglycérides enzymatiques

3.2.4.1. Tableau des absorbances des standards TgCl et TgCH

Valeurs programmées des concentrations des deux standards TgCl et TgCH :

$$. \text{TgCl} = 0,600 \text{ mmol/l}$$

$$. \text{TgCH} = 3,12 \text{ mmol/l}$$

Les valeurs expérimentales des 25 déterminations sont classées dans le tableau 4.

NUMEROS D'ANALYSES	ABSORBANCES STANDARD TgCl	ABSORBANCES STANDARD TgCH
1	0,5035	0,8622
2	0,5145	0,8787
3	0,5361	0,9062
4	0,5341	0,9103
5	0,5406	0,9138
6	0,5222	0,8845
7	0,5149	0,8862
8	0,5857	0,9613
9	0,6234	0,9744
10	0,5036	0,8822
11	0,5056	0,8795
12	0,5029	0,8757
13	0,5497	0,9144
14	0,5416	0,9098
15	0,5470	0,8288
16	0,4615	0,8701
17	0,4816	0,8241
18	0,5498	0,9098
19	0,5533	0,9166
20	0,5706	0,9281

TABLEAU 4

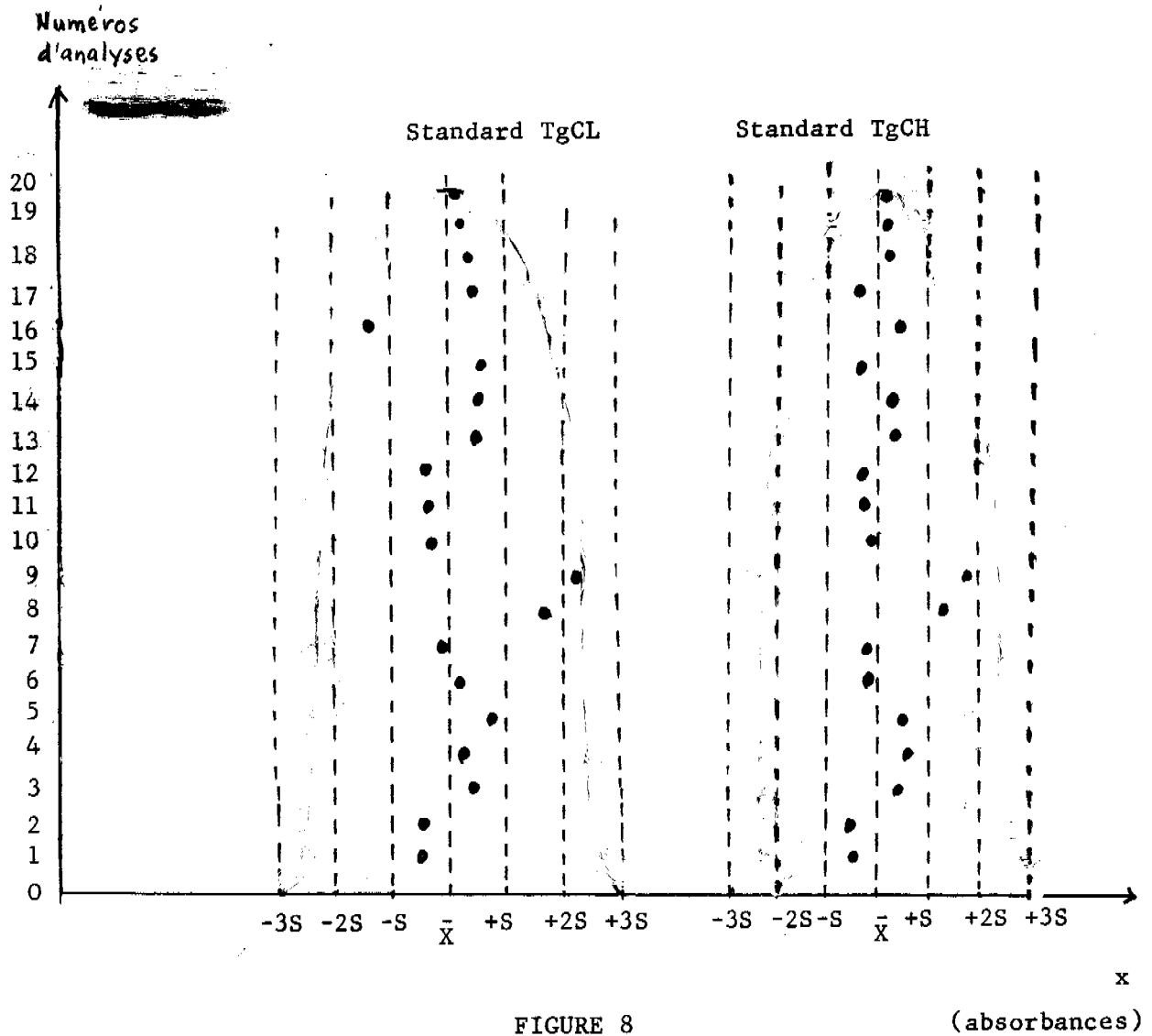
DOSAGE DES TRIGLYCERIDES

Valeurs programmées des standards TgCl et TgCH des concentrations. :

TgCl = 1,15

TgCH = 6,30

GRAPHIQUE DE CONTROLE



Courbe des absorbances des triglycérides

\bar{X} = moyenne des valeurs individuelles

S = écart type

Valeurs pour TgCl

Nombre d'analyses : N = 20

$$\begin{array}{l} \bar{X} = 0,5280 \quad) \\ S = 0,0398 \quad) \\ S_R = 0,0753 \quad) \end{array} \quad \underline{CV = 7,53\%}$$

$$2 S = 0,0796$$

$$3 S = 0,1194$$

Valeurs pour TgCH

Nombre d'analyses : N = 20

$$\begin{array}{l} \bar{X} = 0,8953 \quad) \\ S = 0,0364 \quad) \\ S_R = 0,0407 \quad) \end{array} \quad \underline{CV = 4\%}$$

$$2 S = 0,0728$$

$$3 S = 0,1092$$

COMMENTAIRE

. TgCl : A l'exception du point 9, tous les autres sont dans l'intervalle $\bar{X} \pm 2 S$. Ces points sont corrects (dans les limites admissibles).

Le point 9 se situant dans l'intervalle $[+ 2 S, + 3 S]$ est aussi valable, mais il constitue un signe d'alarme.

Le coefficient de variation étant inférieur à 10%, entraîne une dispersion faible. La méthode est donc acceptable.

- . TgCH : tous les points se trouvent dans l'intervalle $\bar{X} \pm 2 S$, ils sont tous corrects.

Le coefficient de variation étant insignifiant, entraîne une bonne dispersion, par conséquent, une bonne précision.

3.3. CONTROLE DE QUALITE DE L'EXACTITUDE ET DE LA REPRODUCTIBILITE A PARTIR DES SERUMS TQC QUALITE I ET TQC QUALITE II

3.3.1. Fer sérique

3.3.1.1. Tableau des concentrations obtenues des sérums, et commentaire

Le taux réel du fer sérique dosé dans les deux sérums est inconnu. On lui attribue des valeurs théoriques situées dans des limites étroites. La moyenne des valeurs observées peut différer de cette valeur:

Valeurs théoriques :

. TqC qualité 1 = 16

. TqC qualité 2 = 34

Les valeurs expérimentales des 30 dosages sont classées dans le tableau 5.

NUMEROS D'ANALYSES	CONCENTRATIONS TqC QUALITE I	CONCENTRATIONS TqC QUALITE II
1	14,92	35,11
2	14,35	34,91
3	14,93	35,19
4	14,23	34,95
5	14,45	34,95
6	14,92	35,15
7	14,87	34,58
8	14,49	34,47
9	15,27	34,34
10	14,67	34,78
11	15,20	34,86
12	15,97	34,60
13	15,95	34,27
14	16,24	33,07
15	16,04	33,22
16	14,63	33,98
17	14,36	33,66
18	16,26	33,16
19	16,46	32,75
20	16,54	32,40
21	16,24	32,35
22	16,35	32,47
23	16,12	32,61
24	16,72	32,61
25	16,58	32,47
26	16,75	32,26
27	16,77	32,36
28	16,63	32,52
29	16,65	32,43
30	16,68	32,48

TABLEAU 5

DOSAGE DU FER SERIQUE

GRAPHIQUE DE CONTROLE

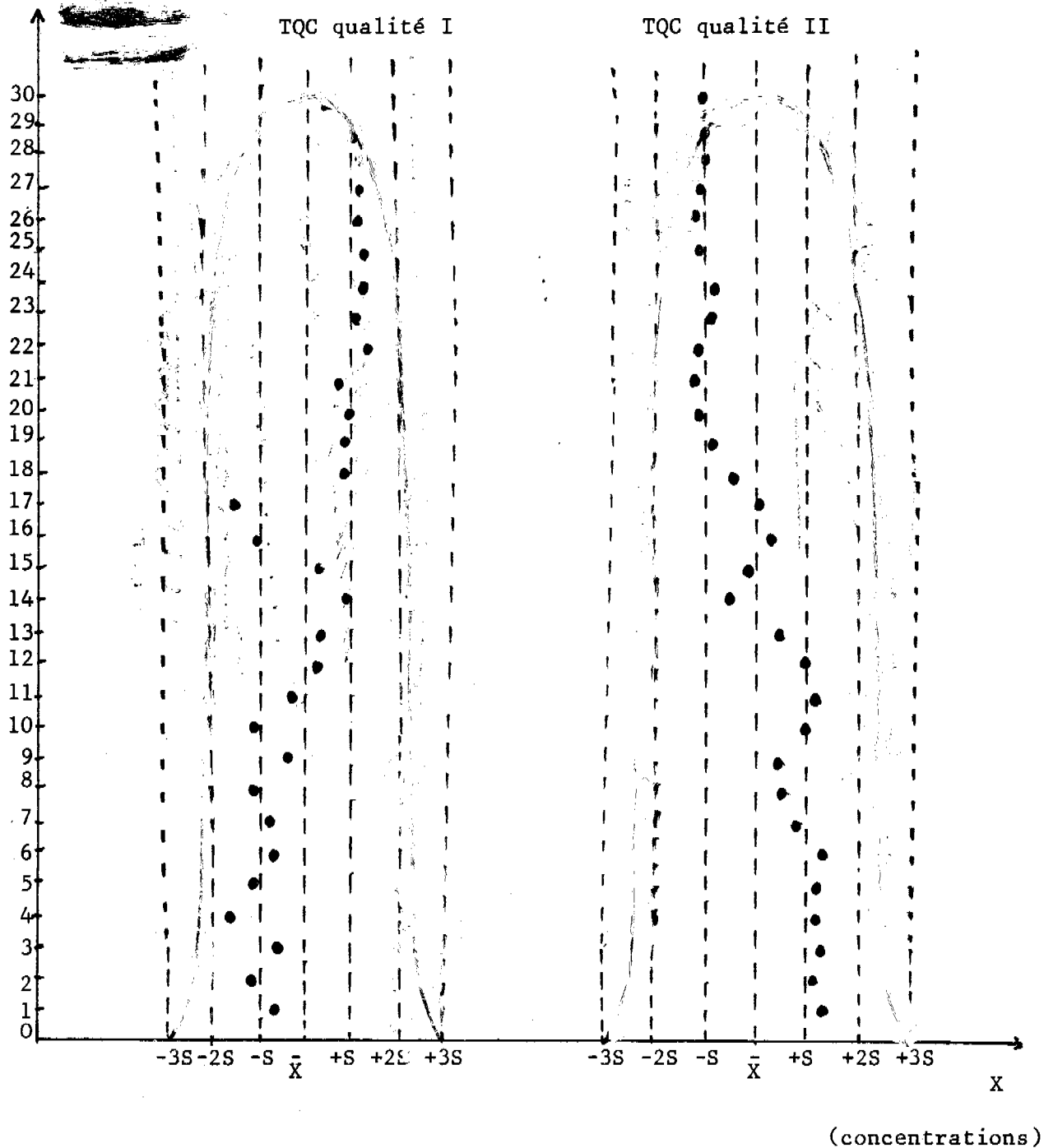


FIGURE 9

Courbe des concentrations des sérums de contrôle du fer sérique

\bar{X} = Moyenne des valeurs individuelles

S = Ecart-type

Nombre d'analyses : N = 30

Valeurs pour TQC qualité I

Valeur théorique = 16

$$\bar{X} = 15,6813 \quad)$$

$$S = 0,8956 \quad)$$

$$S_R = 0,057 \quad)$$

$$\underline{CV = 5,7\%}$$

$$2 S = 1,7912$$

$$3 S = 2,6868$$

Valeurs pour TQC qualité II

Valeur théorique = 34

$$\bar{X} = 33,6320 \quad)$$

$$S = 1,1043 \quad)$$

$$S_R = 0,0328 \quad)$$

$$\underline{CV = 3,2\%}$$

$$2 S = 2,2086$$

$$3 S = 3,3129$$

COMMENTAIRE

. TQC qualité I :

- Tous les points représentatifs des mesures sont situés dans l'intervalle $\bar{X} \pm 2 S$, ils sont corrects.
- Le coefficient de variation étant inférieur à 10%, entraîne une dispersion raisonnable. Donc, la méthode est acceptable..

. TQC qualité II

- Les données des 30 dosages de bilirubine totale sont correctes, ils sont dans l'intervalle $\bar{X} \pm 2 S$.
- Tous les ~~dosages~~ étant dans l'intervalle $\bar{X} \pm 2 S$ sont corrects.
- Le coefficient de variation (inférieur à 5%) entraîne une dispersion raisonnable. La méthode est donc exacte et de bonne reproductibilité.

3.3.2. Bilirubine totale

3.3.2.1. Tableau des concentration obtenues et commentaire

Valeurs théoriques :

. TQC qualité I = 12

. TQC qualité II = 108

Les valeurs expérimentales des 30 dosages sont classées dans le Tableau 7.

NUMEROS D'ANALYSES	CONCENTRATIONS TqC QUALITE I	CONCENTRATIONS TqC QUALITE II
1	13,13	109,7
2	12,96	109,7
3	13,91	110,7
4	13,71	110,9
5	13,56	110,6
6	14,40	110,5
7	13,76	110,9
8	13,65	109,8
9	12,66	110,7
10	13,13	106,7
11	12,72	106,6
12	12,60	108,9
13	12,69	107,4
14	12,67	107,1
15	13,08	107,3
16	13,47	106,2
17	13,61	108,3
18	12,09	108,9
19	13,02	107,0
20	13,96	108,1
21	13,24	109,4
22	13,06	108,5
23	13,51	108,6
24	12,41	108,1
25	12,73	109,1
26	12,35	108,6
27	12,60	108,2
28	13,06	108,9
29	12,40	108,5
30	12,00	109,1

TABLEAU 6
DOSAGE DE LA BILIRUBINE TOTALE

GRAPHIQUE DE CONTROLE

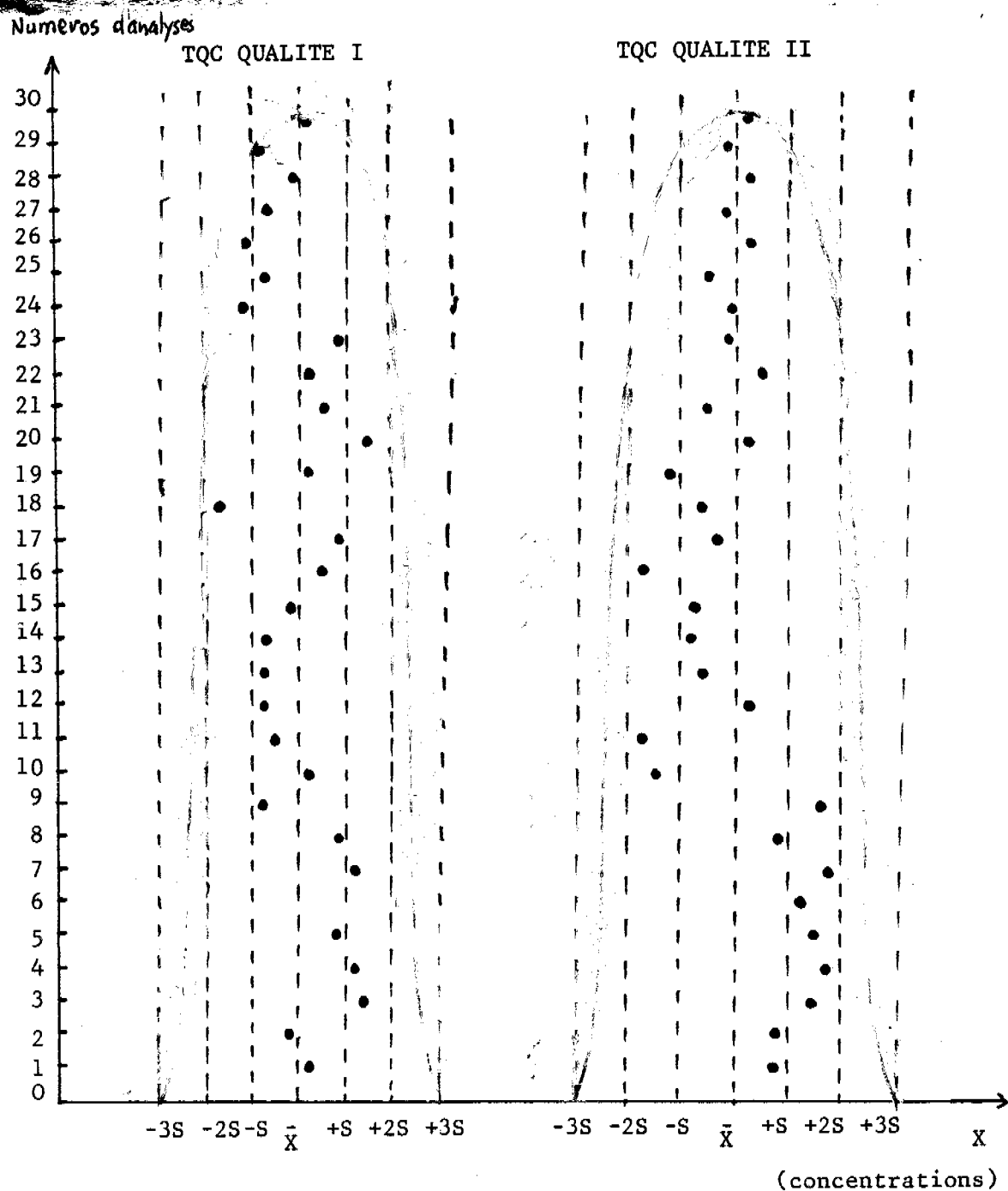


FIGURE 10

Courbe des concentrations des sérums de contrôle de la bilirubine totale.

\bar{X} = moyenne des valeurs individuelles S = Ecart-type

Nombre d'analyses : N = 30

Valeurs pour TQC qualité I

Valeur théorique = 12

$$\begin{array}{l} \bar{X} = 13,0380 \quad) \\ S = 0,6202 \quad) \quad \underline{CV = 4,76\%} \\ S_R = 0,0476 \quad) \\ 2 S = 1,2404 \\ 3 S = 1,8606 \end{array}$$

Valeurs pour TQC qualité II

Valeur théorique = 108

$$\begin{array}{l} \bar{X} = 108,7667 \quad) \\ S = 1,3586 \quad) \quad CV = 1,25\% \\ S_R = 0,0125 \quad) \\ 2 S = 2,7172 \\ 3 S = 4,0758 \end{array}$$

. TQC qualité I et TQC qualité II

Toutes les valeurs représentatives tombent dans l'intervalle $\pm 2 S$.
Donc, elles sont toutes correctes, sauf le point 6 qui constitue un signe d'alarme dans le cas du TQC qualité I. La précision est bonne à cause de la faible dispersion du C.V.

3.3.3. Cholestérol enzymatique

3.3.3.1. Tableau des concentrations obtenues et commentaire

(voir tableau page suivante)

NUMEROS D'ANALYSES	CONCENTRATIONS TqC QUALITE I	CONCENTRATIONS TqC QUALITE II
1	4,584	5,776
2	4,441	5,802
3	4,179	5,934
4	4,431	5,654
5	4,269	5,808
6	4,131	5,681
7	4,520	5,702
8	4,179	5,839
9	4,144	5,555
10	4,171	5,551
11	4,473	5,379
12	4,257	5,534
13	4,125	5,777
14	4,531	5,553
15	4,282	5,750
16	4,299	5,515
17	4,109	5,260
18	4,386	5,704
19	4,262	5,710
20	5,518	5,606
21	4,145	5,812
22	4,348	5,827
23	4,099	5,553
24	4,581	5,605
25	4,193	5,843
26	4,340	5,762
27	4,318	5,817
28	4,136	5,678
29	4,142	5,600
30	4,299	5,348

TABLEAU 7

DOSAGE DU CHOLESTEROL

GRAPHIQUE DE CONTROLE

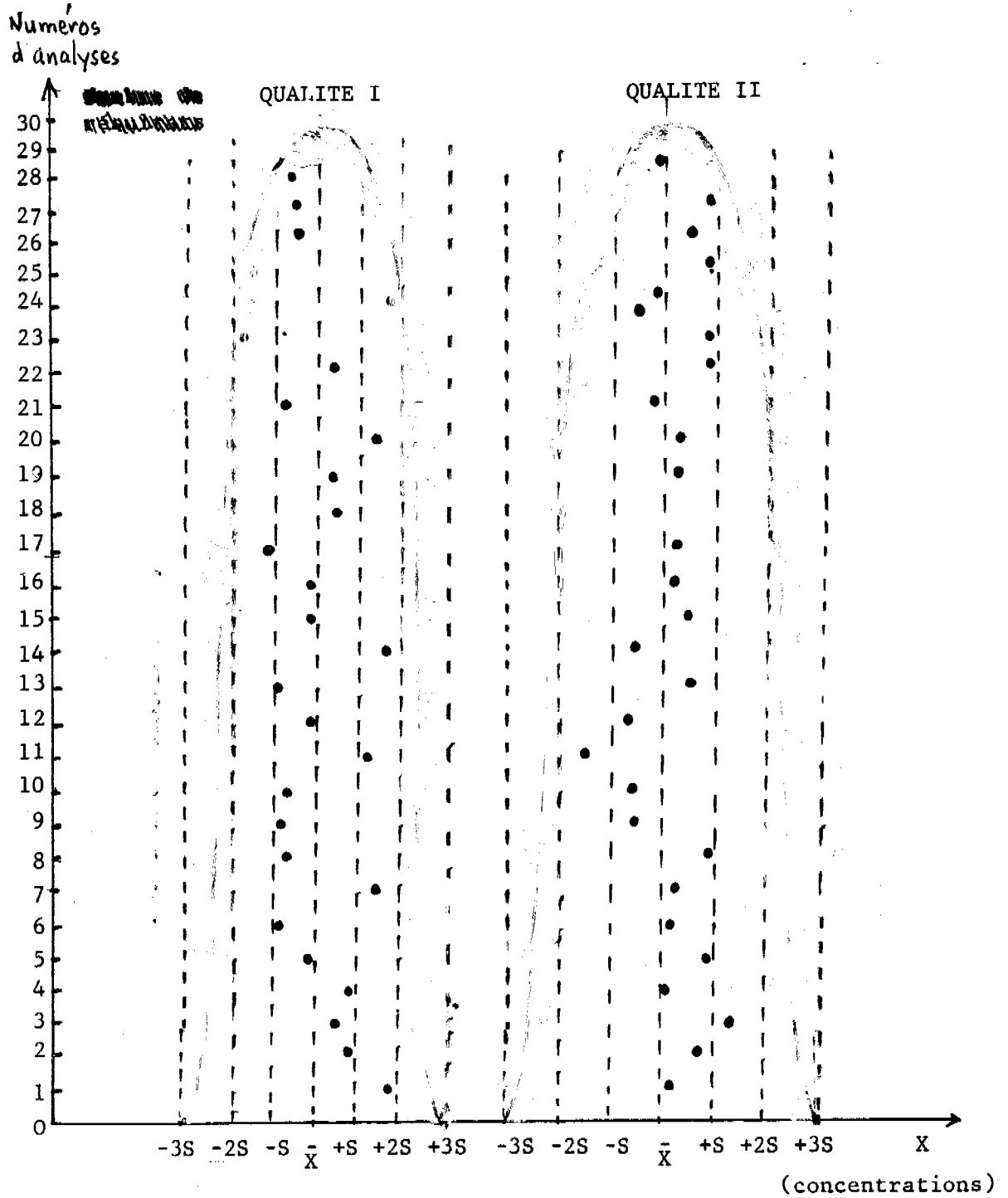


FIGURE 11

Courbe des concentrations des sérums de contrôle du cholestérol. \bar{X} = moyenne des valeurs individuelles, S = écart-type.

Nombre d'analyses : $N = 30$

Valeurs pour TQC qualité I

Valeur théorique = 4,07

$$\bar{X} = 4,2962 \quad)$$

$$S = 0,1537 \quad) \quad \underline{CV = 3,58\%}$$

$$S_R = 0,0358 \quad)$$

$$2S = 0,3074$$

$$3S = 0,4611$$

Valeurs pour TQC qualité II

Valeur théorique = 5,25

$$\bar{X} = 5,6645 \quad)$$

$$S = 0,1595 \quad) \quad \underline{CV = 2,8\%}$$

$$S_R = 0,0282 \quad)$$

COMMENTAIRE

TQC qualité I et TQC qualité II

Toutes les valeurs représentatives des différentes mesures tombent à l'intérieur de l'intervalle $\bar{X} \pm 2 S$. ~~À l'exception du point II qui se trouve en TQC qualité II et qui se situe à l'extérieur de l'intervalle.~~

Par ailleurs, la faible dispersion du coefficient de variation montre une précision satisfaisante. Les valeurs rapprochées de la valeur théorique indiquent une bonne exactitude.

3.3.4. Triglycérides

Les valeurs expérimentales des 30 dosages sont classées au tableau 8.

NUMEROS D'ANALYSES	CONCENTRATIONS TqC QUALITE I	CONCENTRATIONS TqC QUALITE II
1	1,145	1,542
2	1,108	1,589
3	1,123	1,560
4	1,111	1,580
5	1,164	1,585
6	1,168	1,584
7	1,205	1,550
8	1,152	1,556
9	1,147	1,595
10	1,160	1,701
11	1,140	1,577
12	1,171	1,593
13	1,139	1,572
14	1,176	1,566
15	1,148	1,552
16	1,212	1,586
17	1,195	1,586
18	1,161	1,588
19	1,135	1,539
20	1,131	1,562
21	1,163	1,546
22	1,157	1,561
23	1,163	1,595
24	1,212	1,555
25	1,169	1,620
26	1,213	1,678
27	1,141	1,632
28	1,166	1,659
29	1,148	1,666
30	1,118	1,639

TABLEAU 8

DOSAGE DES TRIGLYCERIDES

GRAPHIQUE DE CONTROLE

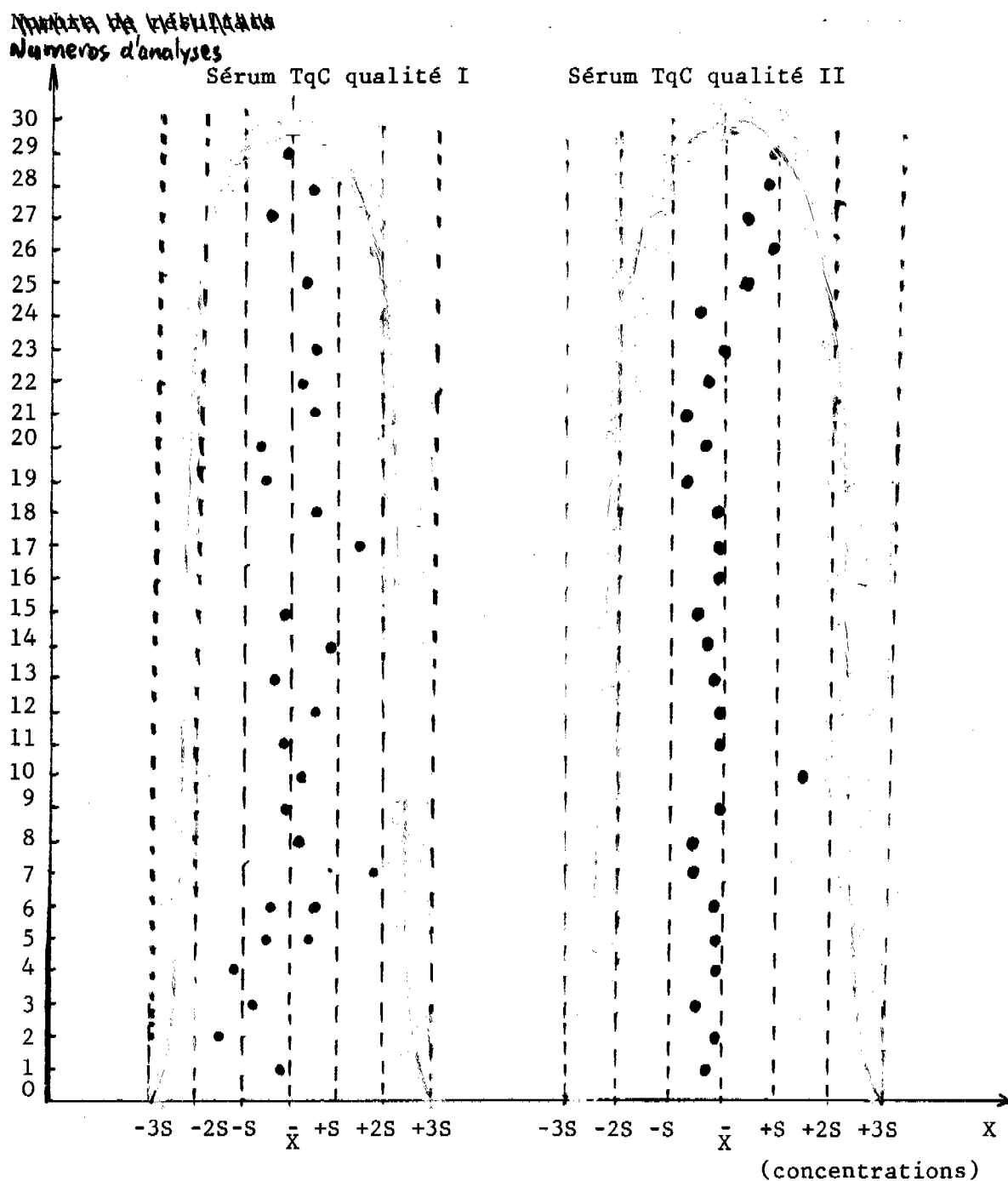


FIGURE 12

Courbe ~~des valeurs~~ des concentrations des sérums de contrôle des triglycérides.

\bar{X} = moyenne des valeurs individuelles - S = écart-type

Nombre d'analyses : $N = 30$

Valeurs pour TQC qualité I

Valeur théorique = 1,20

$$\bar{X} = 1,1580 \quad)$$

$$S = 0,0285 \quad) \quad \underline{CV = 2,46\%}$$

$$S_R = 0,0246 \quad)$$

$$2S = 0,0570$$

$$3S = 0,0855$$

Valeurs pour TQC qualité II

Valeur théorique = 1,65

$$\bar{X} = 1,5971 \quad)$$

$$S = 0,0774 \quad) \quad \underline{CV = 4,85\%}$$

$$S_R = 0,0485 \quad)$$

$$2S = 0,1548$$

$$3S = 0,2322$$

COMMENTAIRE

. TQC qualité I :

- Les points 16,24 et 26 se situent dans l'intervalle $[+2S, +3S]$, ils sont acceptables, mais ils constituent un signe d'alarme.
- Tous les autres points étant dans l'intervalle $\bar{X} \pm 2S$ sont corrects.
- Le coefficient de variation est très faible, d'où une bonne dispersion. Par conséquent, la méthode est exacte et de bonne reproductibilité.

TQC qualité II

- Tous les points se trouvent dans l'intervalle $\bar{X} \pm 2S$; ils sont corrects, donc dans les limites de confiance.
- Le coefficient de variation faible entraîne une dispersion raisonnable. Donc la méthode est précise et exacte.

3.4. COMMENTAIRE GENERAL

Le contrôle de qualité est une activité ancillaire dans un laboratoire d'analyses médicales, pour assurer l'exactitude, la précision et la reproductibilité des méthodes d'analyses. Une importance particulière est attachée à la question des variations inhérentes aux méthodes analytiques et des limites de confiance.

En effet, tous les résultats des tests sont rapportés sur un graphique. On calcule ensuite les valeurs moyennes de tous les résultats obtenus, l'écart-type de l'ensemble qui est la représentation statistique de la dispersion, le coefficient de variation qui est l'expression en pourcentage de l'écart-type par rapport à la valeur moyenne. On fixe ensuite les limites tolérables ou acceptables entre lesquelles auront le droit de figurer les valeurs trouvées pour l'échantillon de contrôle lors des dosages. Ces limites, ou seuil d'alarme, sont généralement fixées arbitrairement à ± 3 écarts types de la moyenne. Toutes les valeurs placées à l'intérieur de ces limites sont considérées comme acceptables, mais à condition qu'elles soient uniformément réparties des deux côtés de la ligne correspondant à la moyenne des valeurs trouvées. Si plusieurs fois de suite, toutes les valeurs restent d'un même côté de la valeur moyenne, ou si les projections sur l'axe des abscisses des valeurs trouvées successivement accusent cette tendance, on sait que l'on a affaire à une erreur systématique.

Si un résultat du sérum de contrôle tombe en dehors des limites, une

intervention est également nécessaire : l'étalon ou les conditions de dosage doivent être contrôlés.

On admet comme bonne une méthode analytique de chimie clinique lorsque le coefficient de variation est inférieur à 5% et qu'elle est utilisable lorsque ce même coefficient n'est pas supérieur à 10%. C'est ainsi que lorsqu'on a à sa disposition des échantillon de contrôle dont la composition a été établie avec des méthodes de référence, il est possible de déterminer l'exactitude des méthodes employées.

Il est important de souligner qu'une méthode peut être très précise sans être pour autant spécifique ou exacte, c'est-à-dire sans donner les valeurs réelles.

Selon la définition de BUTTNER et STAMM, la sureté ou fiabilité est une conception d'ensemble, comprenant à la fois l'exactitude, la spécificité, la précision et la reproductibilité d'une méthode. Si toutes ces exigences sont remplies, on est en droit d'admettre qu'une méthode est maîtrisée. Ainsi, le biologiste pourra se rendre compte que la méthode est d'emblée excellente et ne demandera que certaines vérifications faciles et rapides.

4 - CORRELATION ENTRE LES RESULTATS DES DOSAGES DE POOL DE SERUM DE CALIBRATION (CALIBRANT SMA REFERENCE) DU QUANTACHEM ET D'AUTRES METHODES DE MEME PRINCIPE

Cette comparaison nous permettra de confirmer d'avantage la certitude de la nouvelle méthode. C'est un procédé déterminant mais non favorisant. Cette corrélation est plausible avec les méthodes de dosage de même principe.

Les différences de résultats sont prévisibles étant donné la distinction des techniques opératoires.

4.1. PRINCIPE DE LA CORRELATION

On effectue 20 mesures sur le pool de calibrant SMA référence. Puis on évalue la moyenne et le coefficient de variation des 20 résultats dans chaque méthode, la valeur théorique du sérum étant connue.

4.2. METHODES UTILISEES

- . MULTISTAT : analyseur centrifuge
- . QUANTACHEM : analyseur de transfert
- . MANUELLE : qui dépend des qualités du technicien

Le calibrant est un sérum lyophilisé d'origine bovine.

4.3. FER SERIQUE

- . Valeur théorique = 53,9 $\mu\text{mol/l}$

Les valeurs expérimentales pour les deux méthodes (QUANTACHEM et MANUELLE) sont classées dans le tableau 9).

NUMEROS D'ANALYSES	CONCENTRATIONS	
	QUANTACHEM	METHODE MANUELLE
1	43,38	39,40
2	43,07	41,30
3	44,27	42,70
4	42,85	41,30
5	42,63	49,80
6	42,68	37,00
7	43,13	39,60
8	42,62	37,20
9	43,27	36,80
10	43,15	37,80
11	41,33	41,40
12	40,79	39,20
13	41,15	37,40
14	38,36	40,90
15	38,17	41,20
16	38,20	41,80
17	38,07	42,90
18	40,39	42,00
19	41,01	41,30
20	41,01	35,10

TABLEAU 9

DOSAGE DU FER SERIQUE

Valeur théorique : 53,9 $\mu\text{mol/l}$.

Valeurs expérimentales:

→ QUANTACHEM

$$\begin{array}{l} \bar{X} = 41,3315 \quad) \\ S = 2,1100 \quad) \\ S_R = 0,051 \quad) \end{array} \quad \underline{CV = 5\%}$$

→ METHODE MANUELLE

$$\begin{array}{l} \bar{X} = 40,3050 \quad) \\ S = 3,1644 \quad) \\ S_R = 0,0785 \quad) \end{array} \quad \underline{CV = 7,85\%}$$

INTERPRETATION

La moyenne des dosages sur le QUANTACHEM étant supérieure à celle de la méthode manuelle, est donc plus rapprochée de la valeur théorique.

Le coefficient de variation pour le QUANTACHEM étant inférieur à celui de la méthode manuelle, indique que le QUANTACHEM est plus exact et plus reproductible.

4.4. BILIRUBINE TOTALE

. Valeur théorique = 50.

Les valeurs expérimentales pour les deux méthodes (QUANTACHEM et MULTISTAT) sont classées dans le tableau 10.

NUMEROS D'ANALYSES	CONCENTRATIONS	
	QUANTACHEM	MULTISTAT
1	42,24	45,80
2	42,39	45,50
3	43,15	45,70
4	43,04	46,50
5	44,51	46,00
6	43,07	45,20
7	45,12	46,60
8	43,54	45,40
9	43,07	45,30
10	42,53	45,00
11	42,36	45,50
12	43,30	45,90
13	42,28	46,10
14	42,51	47,20
15	43,92	47,40
16	43,64	46,10
17	43,39	47,60
18	42,43	52,90
19	42,73	38,00
20	42,71	37,00

TABLEAU 10

DOSAGE DE LA BILIRUBINE TOTALE

Valeur théorique : 50.

Valeurs expérimentales :

→ QUANTACHEM

$$\begin{array}{l} \bar{X} = 43,0965 \quad) \\ S = 0,7943 \quad) \\ S_R = 0,0184 \quad) \end{array} \quad CV = \underline{1,84\%}$$

→ MULTISTAT

$$\begin{array}{l} \bar{X} = 45,5350 \quad) \\ S = 3,2282 \quad) \\ S_R = 0,0709 \quad) \end{array} \quad CV = \underline{7,09\%}$$

4.5. CHOLESTEROL

. Valeur théorique = 3,94

Les valeurs expérimentales pour les deux méthodes (QUANTACHEM et MULTISTAT) sont classées dans le tableau 11.

NUMEROS D'ANALYSES	CONCENTRATIONS	
	QUANTACHEM	MULTISTAT
1	3,363	3,30
2	3,533	3,28
3	3,394	3,28
4	3,339	3,26
5	3,355	3,23
6	3,465	3,24
7	3,426	3,19
8	3,486	3,25
9	3,432	3,23
10	3,420	3,19
11	3,540	3,24
12	3,452	3,21
13	3,342	3,20
14	3,352	3,22
15	3,390	3,23
16	3,632	3,22
17	3,455	3,19
18	3,284	3,26
19	3,315	3,14
20	3,439	3,22

TABLEAU 11

DOSAGE DU CHOLESTEROL

Valeur théorique = 3,94

Valeurs expérimentales :

→ QUANTACHEM

$$\begin{array}{l} \bar{X} = 3,4207 \quad) \\ S = 0,0850 \quad) \\ S_R = 0,0248 \quad) \end{array} \quad \underline{CV = 2,48\%}$$

→ MULTISTAT

$$\begin{array}{l} \bar{X} = 3,2280 \quad) \\ S = 0,0381 \quad) \\ S_R = 0,018 \quad) \end{array} \quad \underline{CV = 1,18\%}$$

INTERPRETATION

D'après les calculs, la moyenne des 20 mesures pour le QUANTACHEM est plus rapprochée de la valeur théorique que celle du MULTISTAT.

Le coefficient de variation pour le QUANTACHEM étant plus élevé, il est moins reproductible que le MULTISTAT pour cette chimie.

4.6. TRIGLYCERIDES

. Valeur théorique = 2,02

Les valeurs expérimentales pour les deux méthodes (QUANTACHEM et MULTISTAT) sont classées dans le tableau 12.

NUMEROS D'ANALYSES	CONCENTRATIONS	
	QUANTACHEM	MULTISTAT
1	2,046	2,03
2	2,056	2,06
3	2,068	2,00
4	2,044	2,04
5	2,012	2,02
6	2,056	2,03
7	2,060	2,02
8	2,085	1,96
9	2,034	2,06
10	2,049	2,03
11	2,109	2,05
12	1,979	1,98
13	1,985	1,99
14	1,995	1,99
15	1,956	2,00
16	1,939	2,02
17	1,949	2,01
18	1,942	2,00
19	1,999	2,17
20	1,973	2,15

TABLEAU 12

DOSAGE DES TRIGLYCERIDES

Valeur théorique = 2,02

Valeurs expérimentales :

→ QUANTACHEM

$$\bar{X} = 2,0168 \quad)$$

$$S = 0,0507 \quad)$$

$$S_R = 0,0251 \quad)$$

$$\underline{CV = 2,51\%}$$

→ MULTISTAT

$$\bar{X} = 2,0305 \quad)$$

$$S = 0,0515 \quad)$$

$$S_R = 0,0253 \quad)$$

$$\underline{CV = 2,53\%}$$

INTERPRETATION

Les calculs montrent que la moyenne des mesures pour le QUANTACHEM est plus rapprochée de la moyenne théorique que celle du MULTISTAT.

D'après le coefficient de variation qui est légèrement plus faible pour le QUANTACHEM, la reproductibilité est meilleure que celle du MULTISTAT.

CONCLUSION

Le travail effectué concerne la théorie et le dosage de quatre paramètres pour la mise en route du QUANTACHEM.

Il nous a semblé intéressant, au bout de cette étude, de faire le point sur ce travail,

- . d'une part, pour mieux connaître la technique de l'appareil,
- . d'autre part, pour étudier la qualité des dosages pratiqués.

Le QUANTACHEM nous a passionné par différents aspects :

→ *tout d'abord sur le plan technique :*

Il fonctionne sur un principe original de transfert par pressurisation des échantillons et des réactifs.

En effet, les échantillons sont prélevés des godets par un pipetteur intelligent, vers les tubes réactionnels correspondants. Ces godets sont constamment refroidis par l'eau circulant sous le disque d'échantillon, ce qui permet de retarder l'évaporation et la dégradation des différents constituants qu'ils renferment.

Les réactifs sont déplacés de leurs réservoirs situés sous le disque de test vers les tubes réactionnels. Ces derniers peuvent recevoir jusqu'à 6 réactifs différents.

→ *Ensuite sur le plan informatique :*

En effet, l'appareil est piloté par une informatique assez performante

FER SERIQUE

On a trouvé :

$$\begin{array}{l} \text{Standard II : } \bar{X} = 0,2195 \quad) \\ \quad \quad \quad S = 0,0155 \quad) \quad \underline{CV = 7\%} \end{array}$$

BILIRUBINE TOTALE

$$\begin{array}{l} \text{Standard II : } \bar{X} = 0,0907 \quad) \\ \quad \quad \quad S = 0,0028 \quad) \quad \underline{CV = 3,13\%} \end{array}$$

CHOLESTEROLStandard TgCl (standard bas)

A cause des artéfacts, on n'a pas pu rapporter les résultats dans cette étude.

Standard TgCH (standard haut) :

$$\begin{array}{l} \bar{X} = 0,2565 \quad) \\ S = 0,0223 \quad) \quad \underline{CV = 8,70\%} \end{array}$$

TRIGLYCERIDES

$$\begin{array}{l} \text{Standard TgCl : } \bar{X} = 0,5280 \quad) \\ \quad \quad \quad S = 0,0398 \quad) \quad \underline{CV = 7,53\%} \end{array}$$

$$\begin{array}{l} \text{Standard TgCH : } \bar{X} = 0,8953 \quad) \\ \quad \quad \quad S = 0,0304 \quad) \quad \underline{CV = 4\%} \end{array}$$

Ce traitement numérique des valeurs expérimentales nous donne un résultat satisfaisant, car les coefficients de variation sont assez faibles, inférieurs à 10%, sauf le standard TgCl pour le cholestérol qui a subi des artéfacts, à cause des erreurs systématiques.

2 - POUR LES SERUMS DE CONTROLE

FER SERIQUE

TQC qualité I : valeur théorique = 16

$$\begin{array}{l} \bar{X} = 15,68 \quad) \\ S = 0,89 \quad) \quad \underline{CV = 5,7\%} \end{array}$$

TQC qualité II : valeur théorique = 34

$$\begin{array}{l} \bar{X} = 33,63 \quad) \\ S = 1,10 \quad) \quad \underline{CV = 3,2\%} \end{array}$$

BILIRUBINE TOTALE

TQC qualité I : valeur théorique = 12

$$\begin{array}{l} \bar{X} = 13,03 \quad) \\ S = 0,62 \quad) \quad \underline{CV = 4,76\%} \end{array}$$

TQC qualité II : valeur théorique = 108

$$\begin{array}{l} \bar{X} = 108,76 \quad) \\ S = 1,35 \quad) \quad \underline{CV = 1,25\%} \end{array}$$

CHOLESTEROL

TQC qualité I : valeur théorique = 4,07

$$\begin{array}{l} \bar{X} = 4,29 \quad) \\ S = 0,1537 \quad) \quad \underline{CV = 3,58\%} \end{array}$$

TQC qualité II : valeur théorique = 5,25

$$\begin{array}{l} \bar{X} = 5,66 \quad) \\ S = 0,1595 \quad) \quad \underline{CV = 2,8\%} \end{array}$$

TRIGLYCERIDES

TQC qualité I : valeur théorique = 1,20

$$\begin{array}{l} \bar{X} = 1,158 \quad) \\ S = 0,0285 \quad) \quad \underline{CV = 2,46\%} \end{array}$$

TQC qualité II : valeur théorique = 1,65

$$\begin{array}{l} \bar{X} = 1,5971 \quad) \\ S = 0,0774 \quad) \quad \underline{CV = 4,85\%} \end{array}$$

Dans l'ensemble, le CV est faible, et la moyenne calculée est assez rapprochée de la moyenne théorique. Donc, la méthode présente une bonne exactitude et une bonne précision.

Par ailleurs, nous avons étudié sur des séries de sérum de calibration, la corrélation qui existe entre les méthodologies proposées pour le QUANTACHEM, et celles existant actuellement au Laboratoire.

Pour la bilirubine, le cholestérol et les triglycérides, une étude comparative a été faite entre le QUANTACHEM et le MULTISTAT, qui est un appareil automatique centrifuge. Le fer sérique est actuellement dosé au Laboratoire par une technique manuelle.

Les résultats que nous avons rassemblés dans cette thèse montrent de manière générale une bonne corrélation entre ces différentes méthodes.

BIBLIOGRAPHIE

HENRY, R.J.

Clinical Chemistry : Principles and Technics
2nd Edition, HARPER and ROW Publishers, NEW YORK, p. 684, 1974.

YOUNG, D.S., PESTANER, L.C. and GIBBERMAN, V.
Clin. Chem., 21, 321 D-322 D, 1975.

HENRY, R.J.

Clinical Chemistry : Principles and Technics
2d Edition, HARPER and ROW, Publisher, p. 1440, 1974.

NOSSLIN, B.

Scand.J. Clin. Lab. Invest, 12 (Suppl. 49) 1-176, 1960.

JENDRASSIK, L. and GROF, P.
Biochem. Z, 297, 81, 1938.

FREI, J. et MICHOD, J.

Principes Fondamentaux du Contrôle de Qualité en Chimie Clinique
Schweiz Med. Wschr, 101, 24-28, 1971.

GARRY, P.J.

Clin. Chem. 17 : 192-198, 1971

DIETZ, A.A.

Clin. Chem. 19 : 1309-1313, 1973.

Expert Panel on Enzymes, Committee on Standards (I.F.C.C.)

Clin. Chem. 24, 720-721, 1978.

BUTTNER H. et STAMM D.

Qualitätskontrolle Klinisch Chemischer Untersuchungen
Z. Klin. 4, 303-306 (1966).

ALLAIN, C.C. et al.

Clin. Chem, 20, 470, 1974.

GAMBINO, S.R. and D. RE

J. Bilirubin Assay (Revised), ASCP
Commission on Continuing Education, Chicago, 1968.

