

# B.T.S. ANALYSES DE BIOLOGIE MÉDICALE

## **E4 – U41** **Bases scientifiques et technologiques** **de la biologie médicale**

### **Biochimie**

**SESSION 2021**

---

**Durée : 3 heures**

**Coefficient : 2**

---

**Aucun document ou matériel autorisé.**

Ce sujet comporte un dossier technique dont la lecture est conseillée avant la rédaction.

Dès que le sujet vous est remis, assurez-vous qu'il est complet.  
Le sujet se compose de 17 pages, numérotées de 1/17 à 17/17

BTS Analyses de Biologie Médicale		Session 2021
E4 – U41 : B.S.T.B.M. (BIOCHIMIE)	21ABE4BC1	Page : 1/17

## EXPLORATION DES FONCTIONS THYROÏDIENNES ET DES DYSTHYROÏDIÉS

La thyroïde est une glande endocrine située à la face antérieure du cou et dont la principale fonction est la synthèse des deux hormones thyroïdiennes iodées, la tétraiodothyronine ou thyroxine (T4) et la triiodothyronine (T3).

Les dysthyroïdies (hypothyroïdie et hyperthyroïdie) comptent parmi les maladies endocriniennes les plus fréquentes.

### 1. Étiologie de quelques dysthyroïdies et interférence médicamenteuse (7,5 points)

#### 1.1. Perturbation de la synthèse des hormones thyroïdiennes

Lors de la synthèse des hormones thyroïdiennes, les iodures sanguins sont captés par les thyrocytes grâce à un symporteur  $\text{Na}^+/\text{I}^-$ , selon un mécanisme de transport actif secondaire.

- 1.1.1. Schématiser les transports membranaires à l'origine de l'entrée de  $\text{I}^-$  dans la cellule et du maintien du gradient de concentration en  $\text{Na}^+$ .

La synthèse des hormones thyroïdiennes nécessite la synthèse d'une protéine iodée appelée thyroglobuline.

- 1.1.2. Nommer et localiser les étapes permettant la synthèse de la thyroglobuline iodée à partir de son gène.

La thyroglobuline iodée de la colloïde est endocytée par le thyrocyte.

- 1.1.3. Expliquer le mécanisme permettant la libération des hormones thyroïdiennes T4 et T3 à partir de la thyroglobuline.

Un grand nombre de dysthyroïdies est d'origine auto-immune. Des auto-anticorps neutralisants agissent à différents niveaux lors de la synthèse des hormones thyroïdiennes :

- auto-anticorps anti-Thyro-PerOxydase (anti-TPO) dans la thyroïdite d'Hashimoto ;
- auto-anticorps anti-symporteur  $\text{Na}^+/\text{I}^-$ .

- 1.1.4. Expliquer le mode d'action des auto-anticorps conduisant à la diminution de la synthèse des hormones thyroïdiennes.

#### 1.2. Interférence de l'héparine dans le transport plasmatique des hormones thyroïdiennes et dans leur dosage

Le transport plasmatique des hormones thyroïdiennes est assuré par trois protéines d'importance et d'affinité variables pour les hormones thyroïdiennes : la TBG ou *Thyroxin-Binding Globulin*, la TTR ou transthyrétine et l'albumine.

- 1.2.1. Justifier la nécessité de transporteurs plasmatiques pour T3 et T4.

- 1.2.2. Identifier la protéine ayant la meilleure capacité de transport.

- 1.2.3. Justifier les valeurs des pourcentages des fractions libres de T3 et T4.

BTS Analyses de Biologie Médicale		Session 2021
E4 – U41 : B.S.T.B.M. (BIOCHIMIE)	21ABE4BC1	Page : 2/17

Certains médicaments interfèrent sur la fixation des hormones thyroïdiennes aux protéines de transport et risquent de fausser les résultats du dosage des hormones thyroïdiennes libres. Lors de la prise d'héparine par un patient à risque thrombotique, la lipoprotéine lipase est activée. Cette enzyme hydrolyse les triglycérides, libérant les acides gras qui entrent en compétition avec les hormones thyroïdiennes pour se fixer aux protéines de transport.

- 1.2.4. Tracer les courbes théoriques de l'évolution de la concentration en T4 liée (fraction B) en fonction de la concentration en T4 libre (fraction F), en absence et en présence d'héparine.
- 1.2.5. Dédire la conséquence de cette interférence médicamenteuse sur le dosage des hormones thyroïdiennes.

### 1.3. Mutations à l'origine de la résistance aux hormones thyroïdiennes

La mutation A317T du gène codant le récepteur nucléaire de la triiodothyronine  $rT_3$  est une des mutations à l'origine de la résistance aux hormones thyroïdiennes.

- 1.3.1. Déterminer la séquence en acides aminés correspondant aux 4 codons de l'exon 9 du brin codant de l'ADN pour l'allèle de référence et l'allèle muté.
- 1.3.2. En déduire le type de mutation et sa conséquence au niveau protéique.

Dans les conditions physiologiques, l'hypophyse antérieure régule la synthèse des hormones thyroïdiennes par le biais de la TSH (*Thyroid Stimulating Hormon* ou thyrostimuline) sous contrôle de la TRH hypothalamique (*Thyrotropin-Releasing Hormon* ou hormone thyrotrope).

- 1.3.3. Présenter les principales caractéristiques d'une hormone.
- 1.3.4. Justifier que la mutation A317T entraîne une hyperthyroïdie.

## 2. Conséquences des dysthyroïdies (5,5 points)

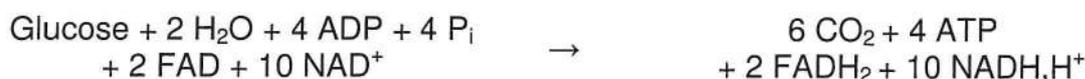
### 2.1. Effets de l'hyperthyroïdie au niveau métabolique

Les hormones thyroïdiennes stimulent le métabolisme basal en accélérant le catabolisme des lipides et du glucose. Ces effets sont accrus en cas d'hyperthyroïdie.

- 2.1.1. Identifier les molécules (A, B) et les voies métaboliques (1 à 6) du document 7.

La synthèse d'ATP a lieu, en aérobose, au niveau de la membrane interne mitochondriale par couplage énergétique avec la voie métabolique ⑥.

- 2.1.2. À l'aide du bilan moléculaire suivant, établir le bilan énergétique du catabolisme du glucose en aérobose, en moles d'ATP formées par mole de glucose oxydée.



Afin de favoriser la thermogénèse, les hormones thyroïdiennes empêchent le couplage énergétique entre la voie métabolique ⑥ et la synthèse d'ATP.

2.1.3. En déduire le bilan énergétique du catabolisme du glucose dans ces conditions.

## 2.2. Hyperlipidémie chez les patients atteints d'hypothyroïdie

L'hypothyroïdie est responsable d'une réduction du nombre de récepteurs cellulaires aux LDL, à l'origine de l'accumulation du cholestérol-LDL dans le sang et d'un risque cardio-vasculaire accru. L'hypothyroïdie peut donc conduire à l'apparition d'une hypercholestérolémie diagnostiquée par le dosage du cholestérol-LDL selon la méthode directe BIOLABO.

2.2.1. Justifier la nécessité de réaliser, chez le patient, le prélèvement après 12 h de jeûne.

La lecture des absorbances A1 et A2 est réalisée respectivement après l'addition du réactif 1 et du réactif 2.

2.2.2. Justifier l'intérêt des deux phases d'incubation de 5 minutes à 37 °C.

2.2.3. Justifier le facteur 0,75 dans la formule de calcul de l'absorbance.

2.2.4. Établir l'équation aux grandeurs permettant le calcul de la concentration en cholestérol-LDL dans le sérum du patient.

Deux contrôles internes de qualité (CIQ) peuvent être réalisés : Taux 1 et Taux 2.

2.2.5. Qualifier le CIQ Taux 2 en fonction de son niveau de concentration.

2.2.6. Interpréter le résultat du contrôle Taux 2 et indiquer la conduite à tenir pour valider la série patients.

## 3. Méthodes de diagnostic des dysthyroïdies primaires (7 points)

Le dosage sanguin de la TSH est l'examen de première intention prescrit pour évaluer l'état fonctionnel de la glande thyroïde. En cas de taux pathologique, le dosage de la  $fT4$  confirmera la dysthyroïdie.

### 3.1. Dosage de la TSH et de la $fT4$ sériques

La TSH et de la  $fT4$  sont dosées sur des automates d'immunoanalyse.

L'obtention d'anticorps monoclonaux et le développement des dosages immunométriques ont conduit à l'amélioration de la performance de ces dosages. Ainsi, la limite de détection des méthodes de dosage de la TSH est passée de 1 mUI.L<sup>-1</sup> à 0,01 mUI.L<sup>-1</sup>.

3.1.1. Indiquer l'impact de cette évolution sur le diagnostic des hyperthyroïdies.

Le Cobas® 8000 Module e-801 de Roche permet le dosage immunologique de la TSH et de la  $fT4$  avec détection par électrochimiluminescence, fondé sur deux méthodes différentes.

BTS Analyses de Biologie Médicale		Session 2021
E4 – U41 : B.S.T.B.M. (BIOCHIMIE)	21ABE4BC1	Page : 4/17

3.1.2. Pour chacun des dosages hormonaux :

- représenter le complexe fixé sur l'électrode aimantée en respectant la légende,
- en déduire le type de méthode utilisée,
- indiquer le sens de variation du signal chimiluminescent mesuré en fonction de la concentration en hormone dans l'échantillon.

### 3.2. Évaluation externe de qualité du dosage de la TSH

Les performances du dosage de la TSH par le Cobas<sup>®</sup> e-801 de Roche et l'automate Alinity de ABBOTT sont comparées par l'évaluation externe de qualité (EEQ) de ProBioQual pour l'échantillon 20MD02.

Le coefficient de variation CV évalue la reproductibilité d'une série de mesures.

3.2.1. Nommer et définir la performance quantifiée par le CV.

3.2.2. Préciser les conditions opératoires répondant à la reproductibilité.

3.2.3. Comparer les CV obtenus pour les deux systèmes analytiques. Conclure.

Le dosage de la TSH sur Alinity (ABBOTT) fourni par le laboratoire N° 2086 a été évalué.

3.2.4. Établir les équations aux valeurs permettant de calculer l'écart-type et le z-score du laboratoire par rapport au groupe de pairs.

3.2.5. Justifier la notation attribuée au laboratoire N° 2086.

3.2.6. Conclure quant aux performances du laboratoire, en termes de notation et de z-score.

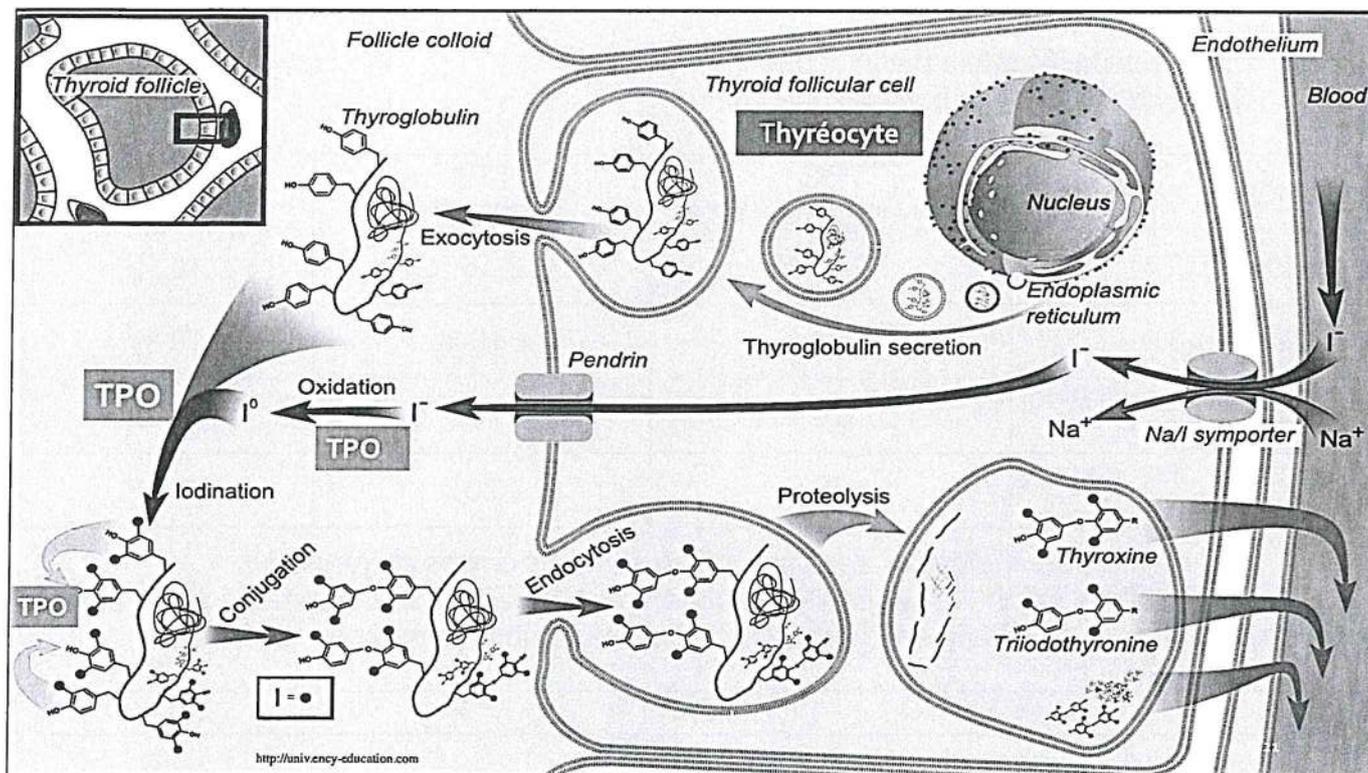
BTS Analyses de Biologie Médicale		Session 2021
E4 – U41 : B.S.T.B.M. (BIOCHIMIE)	21ABE4BC1	Page : 5/17

### Liste des documents

- Document 1 : Schéma récapitulatif de la synthèse des hormones thyroïdiennes T4 et T3
- Document 2 : Caractéristiques des protéines de transport plasmatique et des hormones thyroïdiennes
- Document 3 : Évolution de la concentration en hormone liée aux protéines (B pour *bound*) en fonction de la concentration en hormone libre (F pour *free*)
- Document 4 : Étude de la mutation A317T du gène codant pour le récepteur de la triiodothyronine  $rT3$
- Document 5 : Code génétique
- Document 6 : Régulation de la sécrétion des hormones thyroïdiennes par l'axe hypothalamo - hypophysaire
- Document 7 : Effets des hormones thyroïdiennes sur le métabolisme basal
- Document 8 : Extrait de la fiche technique BIOLABO pour le dosage du Cholestérol-LDL
- Document 9 : Résultats du dosage du Cholestérol-LDL dans le contrôle interne de qualité Taux 2
- Document 10 : Dosage de la TSH et de la  $rT4$  sur Cobas<sup>®</sup> 8000 Module e-801 de Roche
- Document 11 : Extrait d'un rapport d'Évaluation Externe de la Qualité (EEQ) de ProBioQual

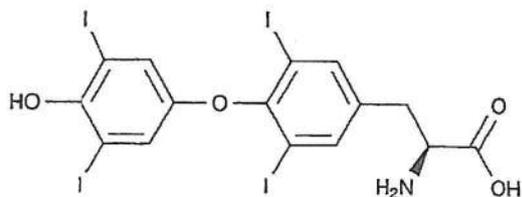
## Schéma récapitulatif de la synthèse des hormones thyroïdiennes T4 et T3

Le follicule thyroïdien correspond à l'unité fonctionnelle de la thyroïde. La colloïde centrale renferme une glycoprotéine iodée, la thyroglobuline (Tg) iodée, forme de stockage des hormones thyroïdiennes, synthétisée par les cellules folliculaires. La thyroglobuline est riche en tyrosine, acide aminé dont dérivent les hormones thyroïdiennes.

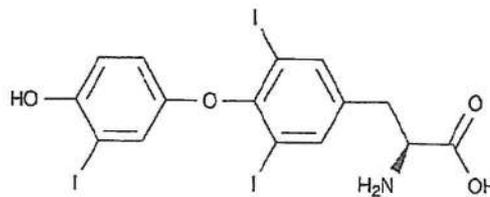


(Walter F., PhD. Le bore, *Physiologie médicale: Une approche cellulaire et moléculaire*, Elsevier / Saunders)

T4 : tétraiodothyronine ou thyroxine



T3 : triiodothyronine



## DOCUMENT 2

**Caractéristiques des protéines de transport plasmatique et des hormones thyroïdiennes**

Par convention on écrit :

- $F$ T4 et  $F$ T3 pour les formes libres,
- $B$ T4 et  $B$ T3 pour les formes liées.

Les formes liées des hormones thyroïdiennes servent de réservoir circulant aux fractions libres  $F$ T4 et  $F$ T3, qui, bien qu'en infime proportion dans le plasma, sont les formes biologiquement actives. Dans les organes cibles,  $F$ T4 est désiodée en  $F$ T3 très active, alors que l'activité de  $F$ T4 est minime.

$F$ T4 : 0,03 % de la T4 totale plasmatique

$F$ T3 : 0,3 % de la T3 totale plasmatique

Protéines de transport	TBG <i>Thyroxin-Binding Globulin</i>	TTR Transthyréline	Albumine
Proportion de $B$ T4	75-80 %	10-15 %	10 %
Proportion de $B$ T3	75-80 %	< 10 %	10 %
Constante de dissociation Kd pour T4 en nmol.L <sup>-1</sup>	0,1	14	1 400
Constante de dissociation Kd pour T3 en nmol.L <sup>-1</sup>	2	70	10 000

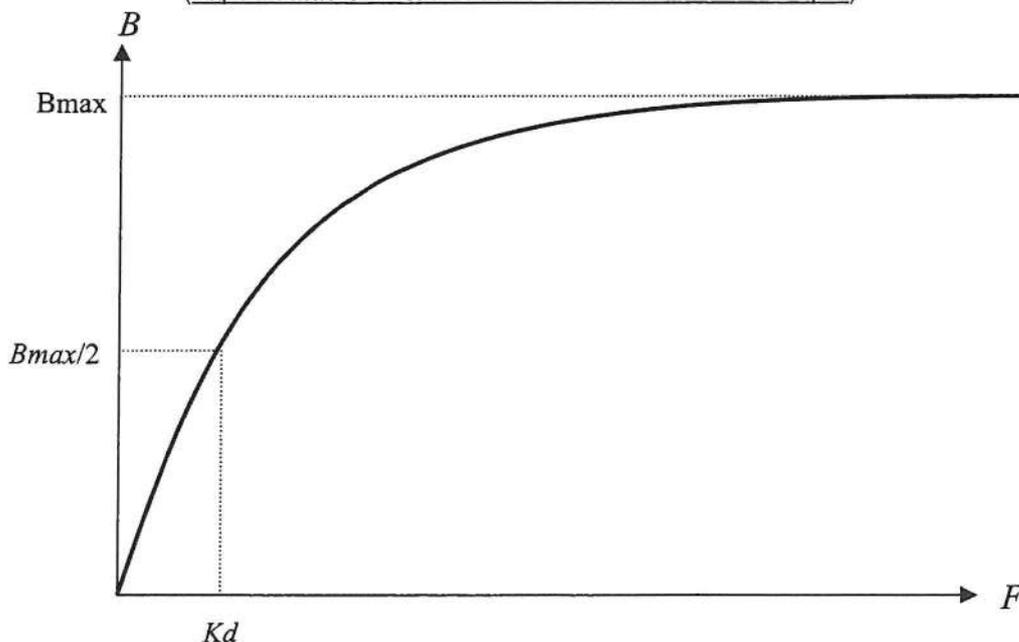
*Les valeurs indiquées dans le tableau sont des ordres de grandeur.*

La constante de dissociation Kd est définie comme étant l'inverse de la constante d'affinité Ka. Ka est proportionnelle à l'affinité de la protéine de transport plasmatique pour l'hormone.

## DOCUMENT 3

**Évolution de la concentration en hormone liée aux protéines (B pour *bound*) en fonction de la concentration en hormone libre (F pour *free*)**

([https://oatao.univ-toulouse.fr/1714/1/debouch\\_1714.pdf](https://oatao.univ-toulouse.fr/1714/1/debouch_1714.pdf))



BTS Analyses de Biologie Médicale		Session 2021
E4 – U41 : B.S.T.B.M. (BIOCHIMIE)	21ABE4BC1	Page : 8/17

## Étude de la mutation A317T du gène codant le récepteur de la triiodothyronine $rT3$

### • Localisation et nature de la mutation

Les récepteurs TR $\beta$  aux hormones thyroïdiennes sont des protéines de localisation nucléaire, qui, liées aux hormones thyroïdiennes, contrôlent l'expression de gènes cibles.

De nombreuses mutations du gène *c-ErbA $\beta$*  codant le récepteur TR $\beta$  ont été identifiées, dont récemment la mutation A317T.

La mutation A317T se situe en position 949 de l'exon 9 du gène *c-ErbA $\beta$* .

### Séquence de 4 codons de l'exon 9 du brin codant de l'ADN du gène *c-ErbA $\beta$* :

Allèle de référence	---	C	T	T	C	G	C	G	C	T	G	C	T	---
Allèle muté	---	C	T	T	C	G	C	A	C	T	G	C	T	---

### • Mécanisme de la résistance hypophysaire consécutive à la mutation

Les mutations du récepteur TR $\beta$  entraînent une forte diminution de l'affinité du récepteur muté pour  $rT3$ .

Elles sont ainsi à l'origine d'une résistance aux hormones thyroïdiennes, pathologie rare, qui se caractérise par l'absence de réponse des tissus cibles aux hormones thyroïdiennes.

Dans le cas présent, la résistance n'affecte que l'hypophyse. Le rétrocontrôle normalement exercé par les hormones thyroïdiennes sur l'hypophyse est alors atténué.

### • Conséquences de la mutation

Cette mutation A317T est responsable de symptômes d'hyperthyroïdie. Le diagnostic biologique montre une concentration sérique accrue de  $rT4$  et  $rT3$  et une concentration en TSH modérément élevée, confirmant un diagnostic de résistance de l'hypophyse aux hormones thyroïdiennes.

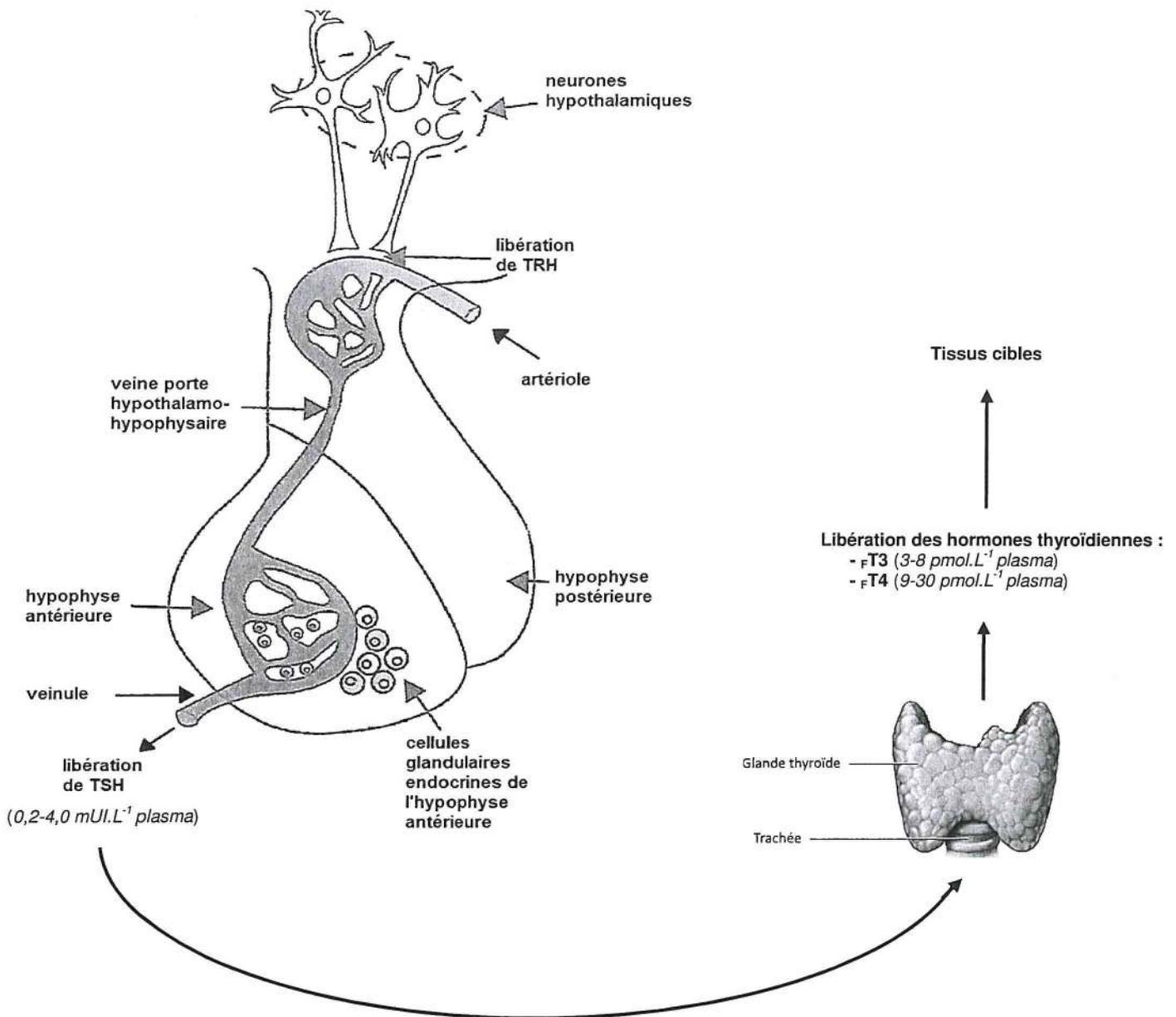
## DOCUMENT 5

### Code génétique

(<https://svtfeyder.wordpress.com/le-code-genetique/>)

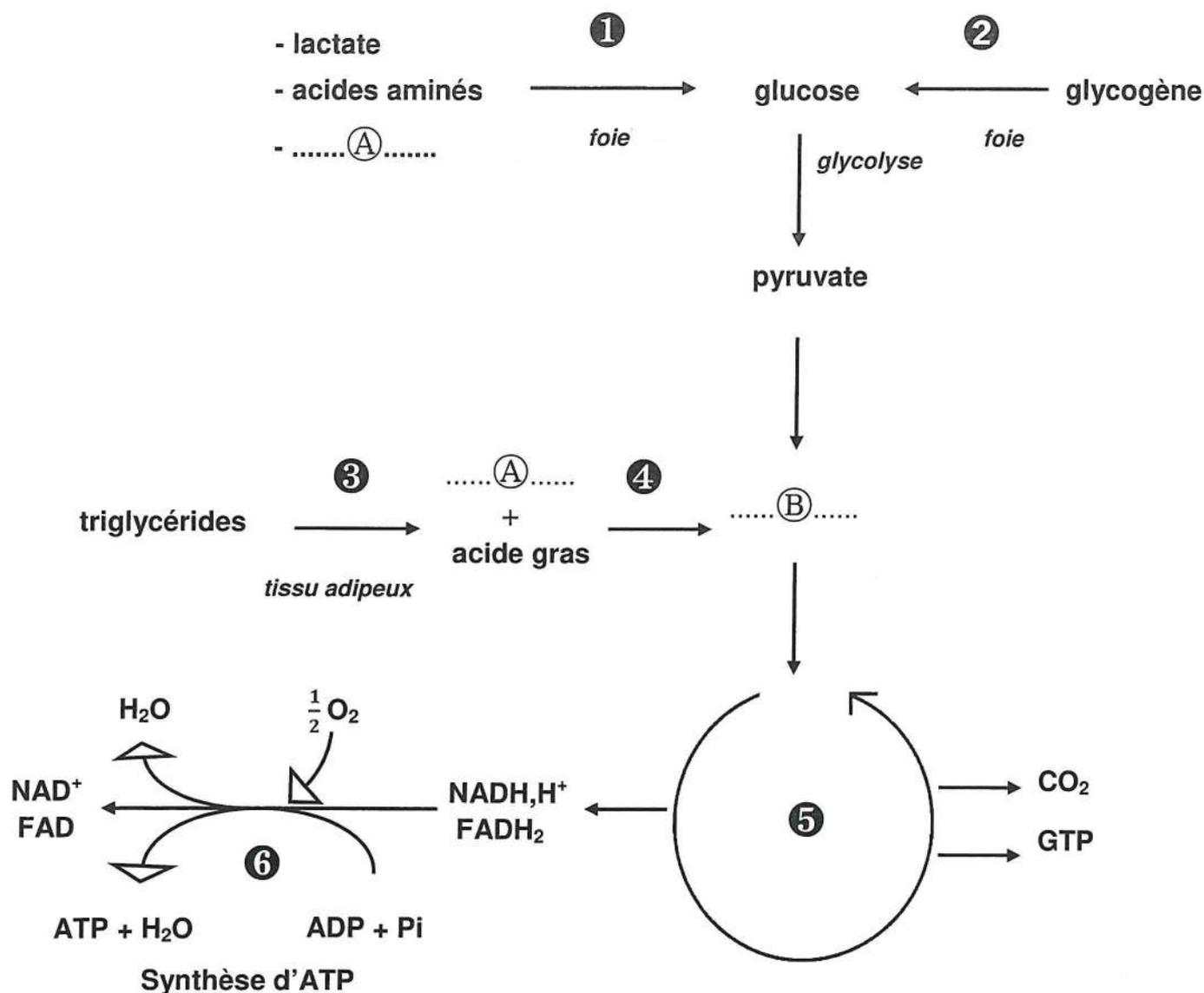
		Deuxième lettre								
		U		C		A		G		
Première lettre	U	UUU	Phe	UCU	Ser	UAU	Tyr	UGU	Cys	Troisième lettre
		UUC	Phe	UCC	Ser	UAC	Tyr	UGC	Cys	
		UUA	Leu	UCA	Ser	UAA	Stop	UGA	Stop	
		UUG	Leu	UCG	Ser	UAG	Stop	UGG	Trp	
	C	CUU	Leu	CCU	Pro	CAU	His	CGU	Arg	
		CUC	Leu	CCC	Pro	CAC	His	CGC	Arg	
		CUA	Leu	CCA	Pro	CAA	Gln	CGA	Arg	
		CUG	Leu	CCG	Pro	CAG	Gln	CGG	Arg	
	A	AUU	Ile	ACU	Thr	AAU	Asn	AGU	Ser	
		AUC	Ile	ACC	Thr	AAC	Asn	AGC	Ser	
		AUA	Ile	ACA	Thr	AAA	Lys	AGA	Arg	
		AUG	Met	ACG	Thr	AAG	Lys	AGG	Arg	
G	GUU	Val	GCU	Ala	GAU	Asp	GGU	Gly		
	GUC	Val	GCC	Ala	GAC	Asp	GGC	Gly		
	GUA	Val	GCA	Ala	GAA	Glu	GGA	Gly		
	GUG	Val	GCG	Ala	GAG	Glu	GGG	Gly		

## Régulation de la sécrétion des hormones thyroïdiennes par l'axe hypothalamo-hypophysaire



(<https://encrypted-tbn0.gstatic.com/images?q=tbn%3AANd9GcR5J3MWcZIsD3uNKnbvOfAsxFb3ctaDJUT6TA&usqp=CAU>  
[https://barf-raw-feeding.fr/wp-content/uploads/2019/03/2019-03-12-00\\_05\\_54-Window.png](https://barf-raw-feeding.fr/wp-content/uploads/2019/03/2019-03-12-00_05_54-Window.png))

## Effets des hormones thyroïdiennes sur le métabolisme basal



La voie métabolique **6** permet la synthèse de 2,5 moles d'ATP par mole de  $\text{NADH, H}^+$  réoxydée, et de 1,5 moles d'ATP par mole de  $\text{FADH}_2$  réoxydée.

## Extrait de la fiche technique BIOLABO pour le dosage du Cholestérol-LDL



BIOLABO  
www.biolabo.fr

FABRICANT :  
BIOLABO SAS,  
Les Hautes Rives  
02160, Maizy, France

## CHOLESTEROL-LDL Méthode directe

Réactif pour le dosage quantitatif du cholestérol-LDL  
dans le sérum ou le plasma humains

### INTERET CLINIQUE (1) (3)

Les lipoprotéines de faible densité (LDL), sont synthétisées dans le foie sous l'action de différentes enzymes lipolytiques sur les lipoprotéines de très faible densité (VLDL) riches en triglycérides. De nombreuses études cliniques et épidémiologiques ont montré qu'une augmentation du Cholestérol-LDL sérique peut être significative d'une augmentation du risque d'athérosclérose et de maladies des artères coronaires. D'autres études ont montré qu'une diminution du Cholestérol-LDL sérique peut être corrélée avec une régression des lésions athérosclérotiques.

### PRINCIPE

Méthode directe avec détergents sélectifs, sans pré-traitement du spécimen.

Au cours de la première phase, seules les lipoprotéines non-LDL sont solubilisées par le détergent 1. Le cholestérol ainsi généré, soumis à l'action de la cholestérol Oxydase (CO) et de la cholestérol Estérase (CE), produit un composé incolore.

Au cours de la seconde phase, le détergent 2 solubilise le cholestérol-LDL. Le couple chromogénique développe une réaction colorée proportionnelle à la concentration en cholestérol-LDL. La lecture s'effectue à 546 nm (520-580).

### REACTIFS

#### flacon R1 REACTIF ENZYMES

Tampon MES pH 6,3	Cholestérol oxydase
Acide ascorbique oxydase	Cholestérol estérase
4-amino-antipyrine	Détergent 1
Péroxydase	Conservateur

#### flacon R2 DETERGENT SPECIFIQUE

Tampon MES pH 6,3	Détergent 2
DSBmT	Conservateur

MES : acide morpholino-éthane-sulfonique  
DSBmT : N,N-bis (4-sulphobutyl)-m-toluidine-disodium

#### REF 95506 BIOLABO CALIBRATEUR HDL / LDL / CK MB

Flacon R1 (lyophilisat) : 1 x 2 mL      Flacon R2 (diluant) : 1 x 5 mL

Voir la Notice technique spécifique du lot incluse dans ce coffret

### PREPARATION DES REACTIFS

Les réactifs sont prêts à l'emploi.

### STABILITE ET CONSERVATION

Stocker à 2-8°C, dans le flacon d'origine bien bouché et à l'abri de la lumière

- Avant ouverture, s'ils sont conservés et stockés dans les conditions préconisées, les réactifs et calibrateur sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du flacon.
- Après ouverture et en l'absence de contamination les réactifs sont stables au moins 3 mois (transférer par versement la quantité nécessaire, bien reboucher les flacons et stocker à 2-8°C).
- Après reconstitution, REF 95506, consulter la notice spécifique du lot. Ne pas utiliser les réactifs s'ils sont troubles ou si l'absorbance mesurée à 546 nm > 0,050.

Ce réactif doit être réfrigéré pendant le transport.

### PRECAUTIONS

Les réactifs BIOLABO sont destinés à du personnel qualifié, pour un usage in vitro.

- Vérifier l'intégrité des réactifs avant leur utilisation.
  - Utiliser des équipements de protection (blouse, gants, lunettes).
  - Ne pas pipeter avec la bouche.
  - En cas de contact avec la peau ou les yeux, rincer abondamment à l'eau et consulter un médecin.
  - Les réactifs contiennent de l'azide de sodium (concentration < 0,1%) qui peut réagir avec les métaux tel que le cuivre ou le plomb des canalisations. Rincer abondamment.
  - La fiche de données de sécurité peut être obtenue sur simple demande.
  - Elimination des déchets : respecter la législation en vigueur.
- Par mesure de sécurité, traiter tout spécimen comme potentiellement infectieux. Respecter la législation en vigueur.

### PRELEVEMENT ET PREPARATION DU SPECIMEN (2) (4)

Patient prélevé après au moins 12-14 h de jeûne. Ne pas utiliser d'oxalate, fluorure, citrate ou héparine.

**Plasma** : Prélevé sur EDTA et séparé par centrifugation des cellules sanguines dans les 3 heures.

**Sérum** : Séparé par centrifugation des cellules sanguines dans les 3 heures.

Le cholestérol-LDL est stable dans le spécimen :

- 1 à 3 jours à 2-8°C
- 1 mois à -20°C.

### INTERFERENCES (6) (7)

Concentrations (g/L) sans interférences significatives ( $\pm 10\%$ ) :

Bilirubine Conjuguée :	0,20
Bilirubine Totale :	0,20
Hémoglobine :	5,00
Acide Ascorbique :	0,50
Triglycérides (TG) :	12,93
Gamma-globulines :	50,00

Au-delà, diluer le spécimen avec NaCl 9 g/L, refaire le dosage en tenant compte de la dilution dans le calcul du résultat.

Ne pas diluer les spécimens avec TG > 12,93 g/L, augmenter le volume de réactif R1 et R2 en respectant les ratios et tenir compte de la dilution pour le calcul du résultat.

Young D.S. a publié une liste des substances interférant avec le dosage.

### REACTIFS ET MATERIEL COMPLEMENTAIRES

- Equipement de base du laboratoire d'analyses médicales.
- Calibrant BIOLABO Cholestérol-LDL REF 95806 (2 x 1 mL) ou tout calibrant d'origine humaine raccordé sur une méthode ou un matériau de référence.
- Calibrateur HDL / LDL / CK-MB REF 95506 (2 x 2 mL)
- ou tout calibrateur traçable d'origine humaine.
- Sérums de contrôle HDL / LDL / CK-MB (origine humaine)
  - REF 95516 Contrôle HDL / LDL / CK-MB Taux 1 (2 x 2 mL)
  - REF 95526 Contrôle HDL / LDL / CK-MB Taux 2 (2 x 2 mL)
 ou tout Sérum de contrôle d'origine humaine.

**CALIBRATION**

- Ne pas utiliser de Calibrant aqueux.
- Utiliser le Calibrant BIOLABO Cholestérol-LDL REF 95806.
- Ou le Calibrateur HDL LDL CK-MB REF 95506 traçable sur SRM® 1951b (Standard Reference Material®) titrés au CDC (Center for Disease Control)
- Ou tout Calibrant d'origine humaine raccordé sur une méthode ou un matériau de référence.

La fréquence de calibration dépend des performances de l'analyseur et des conditions de conservation du réactif.

Il est recommandé de calibrer à nouveau dans les cas suivants :

1. Changement du lot de réactif.
2. Après opération de maintenance sur l'analyseur.
3. Les valeurs de contrôle sortent des limites de confiance, même après utilisation d'un deuxième flacon de sérum de contrôle fraîchement reconstitué.

**CONTRÔLE DE QUALITE****CODE CNQ : SX**

- REF 95516 Contrôle HDL LDL CK-MB Taux 1
- REF 95526 Contrôle HDL LDL CK-MB Taux 2
- Ou tout sérum de contrôle d'origine humaine titré pour cette méthode (détergent sélectif et accélérateur).
- Programme externe de contrôle de la qualité.

Il est recommandé de contrôler dans les cas suivants :

- Au moins un contrôle par série.
- Au moins un contrôle par 24 heures.
- Changement de flacon de réactif.
- Après opérations de maintenance sur l'analyseur.

Lorsqu'une valeur de contrôle se trouve en dehors des limites de confiance indiquées, appliquer les actions suivantes :

1. Répéter le test en utilisant le même contrôle.
2. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, préparer un sérum de contrôle fraîchement reconstitué et répéter le test.
3. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, utiliser un autre calibrant ou un calibrant fraîchement reconstitué et répéter le test.
4. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, calibrer à nouveau en utilisant un autre flacon de réactif et répéter le test.
5. Si la valeur obtenue reste en dehors des limites, contacter le service technique BIOLABO ou le revendeur local.

**INTERVALLES DE REFERENCE (5)**

Cholestérol-LDL	g/L	[ mmol/L ]
Valeurs recommandées	< 1,30	[ < 3,36 ]
Risque faible	1,30-1,59	[ 3,36 – 4,11 ]
Risque élevé	≥ 1,60	[ ≥ 4,13 ]

Il est recommandé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence pour la population concernée.

**MODE OPERATOIRE (TECHNIQUE MANUELLE)****Ne pas utiliser de Calibrant aqueux.**

Ramener les réactifs et spécimens à température ambiante.

Vérifier et régler l'appareil pour lecture sur des micro-volumes	Blanc	Calibrateur	Dosage
<b>Réactif R1</b>	300 µL	300 µL	300 µL
<b>Calibrateur</b>		3 µL	
<b>Spécimen</b>			3 µL

Bien mélanger, laisser reposer 5 minutes à 37°C.  
Enregistrer les absorbances A1 à 546 nm (520-580) contre le blanc réactif

Ajouter	Blanc	Calibrateur	Dosage
<b>Réactif R2</b>	100 µL	100 µL	100 µL

Bien mélanger, laisser reposer 5 minutes à 37°C.  
Enregistrer les absorbances A2 à 546 nm (520-580) contre le blanc réactif.

**Remarques :**

- 1- En fonction des caractéristiques de l'instrument, les volumes ci dessus peuvent être modifiés en conservant le rapport de dilution (ex : R1 240 µL, R2 80 µL, spécimen 2.4 µL ou 3 µL).  
Se reporter au § LINEARITE.
- 2- Des procédures spécifiques sont disponibles pour les analyseurs automatiques. Contacter le service technique BIOLABO.

**CALCUL**

L'utilisation d'un analyseur automatique en mode bi-chromatique (546-660 nm) est recommandée.

En méthode manuelle, calculer  $\Delta Abs. = (A2 - 0,75 A1)$  pour le dosage et le Calibrant.

**Résultats du dosage du Cholestérol-LDL dans le contrôle interne de qualité Taux 2**

Valeur cible	2,10 g.L <sup>-1</sup>
Ecart-type de reproductibilité (ET)	0,04 g.L <sup>-1</sup>
Seuils d'avertissement	valeur cible +/- 2 ET
Seuils d'alarme	valeur cible +/- 3 ET
Résultat expérimental du CIQ de la série en cours	2,25 g.L <sup>-1</sup>

**Dosage de la TSH et de la  $fT4$  sur Cobas® 8000 Module e-801 de Roche**

Principe du test Elecsys TSH pour le dosage de la TSH	Principe du test Elecsys $fT4$ pour le dosage de la T4 libre
Étape 1 : 1 <sup>ère</sup> incubation	
Mise en présence de l'échantillon avec un anticorps monoclonal anti-TSH biotinylé (Ac anti-TSH~biotine) et un anticorps monoclonal anti-TSH ruthénylé (Ac anti-TSH~Ru).	Mise en présence de l'échantillon avec un anticorps monoclonal anti-T4 ruthénylé (Ac anti-T4~Ru).
Étape 2 : 2 <sup>ème</sup> incubation	
Addition d'une phase solide de microparticules paramagnétiques tapissées de streptavidine dans la cuvette réactionnelle.	Addition dans la cuvette réactionnelle de T4 biotinylée (T4~biotine) et d'une phase solide de microparticules paramagnétiques tapissées de streptavidine.
Étape 3 : révélation	
Aspiration du mélange réactionnel dans la cellule de mesure où les microparticules sont maintenues au niveau de la surface de l'électrode de platine par un aimant. Élimination de la fraction libre par lavage et ajout du révélateur du ruthényle. L'application d'une différence de potentiel à l'électrode déclenche la production de luminescence à 620 nm par la fraction liée, qui est mesurée par un photomultiplicateur.	
Légende <span style="float: right; font-size: small;">Created in BioRender.com bio</span>	
<p>Antigène à doser : TSH</p>  <p>Ac anti-TSH~biotine</p>  <p>Ac anti-TSH~Ru</p>  <p>Microparticule paramagnétique tapissée de streptavidine</p> 	<p>Antigène à doser : T4</p>  <p>T4~biotine</p>  <p>Ac anti-T4~Ru</p>  <p>Microparticule paramagnétique tapissée de streptavidine</p> 

## Extrait d'un rapport d'Évaluation Externe de la Qualité (EEQ) de ProBioQual

Évaluation externe de la qualité  
Rapport définitif



Centre lyonnais pour  
la **PRO**motion de la  
**BIO**logie et du  
contrôle de **QUAL**ité

## Immunodosages avec marqueur

Sérums 20MD01 / 20MD02 (origine humaine)

1. Exploitation statistique des résultats du dosage de la TSH du sérum de contrôle externe de qualité 20MD02 (niveau de concentration élevé) pour les groupes techniques ABBOTT et ROCHE Elecsys/Modular/Cobas.

20MD02 / TSH (mUI.L<sup>-1</sup>)

Limites acceptables (LA) à +/- 10,9 %

Groupes techniques/pairs	Codage	Histogramme	n	Cible	CV	Limites
ABBOTT Architect / Alinity	RJ		246	25,30	4,4	22,54-28,06
- dont Architect	RJ U4Y		159	25,55	4,5	22,77-28,33
- dont Alinity	RJ U4Z		84	24,87	3,6	22,16-27,58
ROCHE Elecsys/Modular/Cobas	RD		406	33,47	3,3	29,82-37,12
- dont Cobas e-411	RD UWL		12	33,62	5,0	29,76-37,48
- dont Cobas e-601/e 602	RD UWR, UWT		287	33,76	2,9	30,08-37,44
- dont Cobas e-801	RD UWS		106	32,63	2,8	29,07-36,19

## 2. Évaluation personnalisée du laboratoire de N° d'anonymat 2086 pour les résultats du dosage de la TSH du CEQ 20MD02 sur l'automate ABBOTT Alinity.

L'évaluation du laboratoire N° 2086 est réalisée par rapport à la valeur cible (moyenne) du groupe de pairs utilisant le même appareil ABBOTT Alinity.

### 2.1. Données générales sur l'évaluation des laboratoires.

L'exactitude de la méthode analytique est évaluée selon deux critères :

- **la notation**

L'inexactitude relative est comparée aux limites acceptables (LA, exprimées en %).

Si le résultat est « conforme », on distingue trois notations : TB, B- et B+

B-	TB	B+
- LA	- 0,5 LA	0 %
	0,5 LA	LA

Le résultat est « non-conforme » si l'inexactitude relative se trouve au-delà des limites acceptables.

- **le z-score**

Il désigne en nombre d'écart-types, l'écart entre le résultat du laboratoire et la valeur cible du groupe de pairs.

$$\text{z-score} = \frac{(\text{résultat du laboratoire} - \text{valeur cible})}{\text{écart-type du groupe de pairs}}$$

$ z\text{-score}  \leq 2$	: performance satisfaisante
$2 <  z\text{-score}  < 3$	: performance discutable (à surveiller, action préventive)
$ z\text{-score}  \geq 3$	: performance non satisfaisante (action corrective)

### 2.2. Évaluation du laboratoire N° 2086

Analyte	Référence du contrôle	Limites acceptables (LA)	Résultat du laboratoire	Pairs				
				Cible	Inexactitude relative %	CV %	Notation	z-score
TSH (mUI.L <sup>-1</sup> )	20MD01	21,8 %	0,121	0,122	-0,8	3,8	TB	-0,2
	20MD02	10,9 %	23,840	24,870	-4,1	3,6	TB	-1,2
	Votre codage : RJ U4Z (ABBOTT Diagnostic sur Alinity)							

