



*Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention de diplôme
d'état en pharmacie*

Présenté par :

Mr. Amara Abdallah

Mlle. Arrar Meriem Salima

Mlle. Ben yelles Fatema Zohra

Intitulé du Thème

signé le 07/07/13
D. MEGHELLI Sidi Med.
Maître assistant
Biophysique
C.H.U. TLEMCEM

Contrôle de qualité des dosages radioimmunologiques

Encadreur : Dr Meghelli sidi Mohammed

Maitre assistant Hospitalo-universitaire en biophysique

Année Universitaire : 2012-2013



UNIVERSITE ABOUBEKR BELKAID TLEMCEM
Faculté de médecine
Département de pharmacie
Service de médecine nucléaire- CHU Tlemcen



Contrôle de qualité des dosages radioimmunologiques.

Présenté par :

Mr. Amara Abdallah

Mlle. Arrar Meriem Salima

Mlle. Benyelles Fatema Zohra

DEDICACES

Amara Abdallah



Je dédie cette mémoire à ... ✍

A ma très chère mère Abdellaoui Fatima

Affable, honorable, aimable : Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.

Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.

Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte.

Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études. Je te dédie ce travail en témoignage de mon profond amour. Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et T'accorder santé, longue vie et bonheur.

A la mémoire de mon Père Amara Mohammed

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous.

Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.

Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

A mon très cher frère Amara Mohammed

Mon cher frère, les mots ne suffisent guère pour exprimer l'attachement, l'amour et l'affection que je porte pour vous.

Mon cher petit frère présent dans tous mes moments d'examens par son soutien moral et ses belles surprises sucrées.

Je te souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite et de sérénité.

Je t'exprime à travers ce travail mes sentiments de fraternité et d'amour.

A mon très cher Amour Imene

Quand je t'ai connu, j'ai trouvé la femme de ma vie, la lumière de mon chemin.

Ma vie à tes côtés est remplie de belles surprises. Tes sacrifices, ton soutien moral et matériel, ta gentillesse sans égal, ton profond attachement m'ont permis de réussir mes études.

Sans ton aide, tes conseils et tes encouragements ce travail n'aurait vu le jour.

Que dieu réunisse nos chemins pour un long commun serein et que ce travail soit témoignage de ma reconnaissance et de mon amour sincère et fidèle.

A tous les membres de ma famille, petits et grands

Veillez trouver dans ce modeste travail l'expression de mon affection.

*A notre chère et dynamique docteur Meghelli Sidi
Mohammed*

*Un remerciement particulier et sincère pour tous vos efforts fournis.
Vous avez toujours été présente.*

*Que ce travail soit un témoignage de ma gratitude et mon profond
respect*

A mes chers collègues

*Tout les étudiants et étudiantes de la cinquième année pharmacie
promotion 2012/201.*

*Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon
affection et mes pensées, vous êtes pour moi des frères, sœurs et des amis
sur qui je peux compter.*

*En témoignage de l'amitié qui nous uni et des souvenirs de tous les
moments que nous avons passé ensemble, je vous dédie ce travail et je
vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.*

La table des matières

<u>Dédicace</u>	
<u>La liste des tableaux et des figures</u>	i
<u>La liste des abréviations</u>	ii
<u>Introduction</u>	1
<u>Problématique</u>	2
<u>Partie théorique</u>	3
I. Les immunodosages	3
1.1. Principes	3
1.2. Les différentes méthodes de dosage radioimmunologique.....	5
1.2.1. Méthode par compétition type R.I.A (par défaut d'anticorps).....	5
1.2.2. Méthode immunométrique a deux sites ou méthode dite « SANDWICH » ou méthode par excès d'anticorps (IRMA).....	6
• Avantage des dosages radioimmunologique.....	7
• Inconvénients des dosages radioimmunologique.....	7
1.3. Les méthodes immuno-enzymatiques.....	8
1.3.1. Principe.....	8
1.3.2. ELISA indirecte	8
• Applications.....	9
1.3.3. ELISA en sandwich.....	10
1.3.4. ELISA par compétition.....	11
1.3.5. Avantages de la technique.....	12
1.3.6. Inconvénients de la technique.....	12
1.4. Substance étalon, molécule à doser de concentration connue.....	12
1.5. Détection de la radioactivité.....	13
1.6. Le signal radioactif.....	13

• Le signal.....	13
A- Les signaux isotopiques.....	14
B- Le signal enzymatique.....	14
C- Le signal fluorescent.....	14
D- Le signal chimiluminiscent.....	14
II. Contrôle de qualité.....	15
2.1. Erreur systématique.....	15
2.2. Erreur aléatoire.....	15
2.3. Exactitude.....	17
2.4. Méthodes de validation.....	17
• Test de dilution.....	17
• Test de surcharge ou récupération.....	17
2.5. Précision.....	18
• Profil de précision.....	18
• Courbe RER.....	18
2.6. Sensibilité.....	21
• Sensibilité analytique.....	21
• Facteurs techniques qui jouent sur la sensibilité d'un jour à l'autre.....	21
2.7. Spécificité.....	22
• Contrôle de qualité.....	22
• Contrôle de la stabilité de la courbe d'étalonnage.....	23
• Contrôle de la dérive.....	23
• Contrôle de l'exactitude.....	23
• Critères de rejet.....	23

La liste des tableaux et des figures

A- Listes des figures

Figure 1.Principe général des dosages radio-immunologiques.....	4
Figure 2.La courbe décroissante du R (le rapport entre la radioactivité liée / libre)	4
Figure 3.Principe du dosage RIA	5
Figure 4.Principe du dosage IRMA.....	6
Figure 5.Principe ELISA indirect.....	9
Figure 6.Principe d'ELISA sandwich.....	10
Figure 7. Principe ELISA par compétition.....	11
Figure8.La courbe d'étalonnage du TSH par technique IRMA.....	26
Figure 9.Resultats du dosage du TSH par IRMA n°1.....	27
Figure 10.Resultats du dosage du TSH par IRMA n°2.....	28
Figure 11.Resultats du dosage du TSH par IRMA n°3.....	29
Figure 12.Resultats du dosage du TSH par IRMA n°4.....	30

B- Liste des graphes

Graphe 1.Représente la courbe RER du dosage RIA.....	19
Graphe 2. Représente la courbe RER du dosage IRMA.....	19

La liste des abréviations

Ac : anticorps

Ag⁰ : molécule à doser antigène libre

Ag* : anticorpsmarqué

CHUT: Centre hospitalo-Universitaire Tlemcen

CLIA : Chemi lumino immuno assay

CV : coefficient de variance (erreur aléatoire)

CV_{ct} : erreur aléatoire du comptage

CV_{exp} : erreur aléatoire expérimental

CV_r : erreur dut à la décroissance radioactive

EIA: Enzyme immuno assay

ELISA: enzyme-linked immunosorbent assay

FIA: Fluoro immuno assay

FSH: Hormone folliculo-stimulante

HAMA : anticorps humains anti-souris

HCG : hormone chorionique gonadotrope

IRMA : immuno radio metric assay

LH : Hormone lutéinisante.

PH : Le potentiel hydrogène

RER : Répétabilité et Reproductibilité

RI : Radioimmunologique

RIA : Radio immuno-assay

SD : distribution de poisson

Introduction

L'analyse en pratique médicale constitue la principale étape pour effectuer un diagnostic.

La méthode de dosages radio-immunologiques également appelée radio-immunologie est une technique de médecine nucléaire in vitro qui utilise des composés radioactifs associés à des antigènes. Elle sert à doser de manière très précise des substances biologiques tels que les anticorps, les hormones, les enzymes, ou les stéroïdes. Elle a été mise au point dans les années 1950 par les américains Solomon Berson et Rosalyn Yalow. De nos jours, la méthode immuno-enzymatique ELISA a largement supplanté la radio-immunologie.⁽¹⁾

Dans les années 60, l'exploration thyroïdienne se limitait au PBI (Protein Bound Iodine), qui reflétait de manière imparfaite la concentration sérique de la thyroxine(T4).

L'introduction de la radio-immunologie, au début dans les années 70, a bouleversé l'exploration thyroïdienne avec introduction des dosages sériques de la thyrotropine(TSH) puis de la T4 et de la T3 totale.⁽²⁾

En effet le dosage R.I. est une méthode micro analytique qui utilise les radionucléides pour mesurer, aux fins de diagnostic, des concentrations infinitésimales de substances telles que les hormones, les vitamines, et les médicaments dans les fluides de l'organisme. Elle a l'avantage d'être particulièrement sensible et spécifique, de sorte que l'on peut faire des mesures sur des spécimens de faible volume, et la plupart du temps sans devoir procéder à des opérations compliquées d'extraction et de purification. De surcroit, la mesure de la radioactivité qui est l'opération finale, donne des résultats plus précis que l'on obtient par voie chimique.⁽³⁾

Ce mémoire consiste à vérifier la qualité de ces dosages et suivre l'assiduité lors de l'opération de ces dosages.

Le stage d'initiation qu'on a effectué dans le service de la médecine nucléaire du CHU Tlemcen, nous a permis de voir les mesures nécessaires à la réalisation des dosages, tenant compte des précautions préalables et finales pour aboutir à un résultat le plus performant possible.

Problématique :

La médecine est marquée par l'accroissement constant des données publiées et le développement rapide de nouvelles techniques qui modifient constamment les stratégies de prise en charge préventive diagnostique et thérapeutique des malades.⁽⁴⁾

Cela implique le recours à un personnel hautement qualifié, à l'utilisation d'un matériel fiable et adéquat, répondant aux normes réglementaire.⁽⁵⁾

L'approche doit être pragmatique et doit faire appel à la fois aux méthodes scientifiques et techniques les plus récentes ayant fait leurs « preuves » sur le terrain, donc l'importance du choix de la méthode de dosage en particulier en milieu hospitalier et quasi importante.⁽⁶⁾

Réaliser un dosage, c'est déterminer avec la plus grande précision possible, la concentration d'une espèce chimique en solution.⁽⁷⁾

La question posée est :

Quelles sont les méthodes analytiques disponibles ?

Tous biologiste faisant appel à un dosage est régulièrement confronté au problème de l'essai et du choix d'une nouvelle technique liée ou non à l'utilisation d'un automate soit en référence à la technique déjà en place dans son laboratoire, soit parmi d'autres techniques nouvelles.

Quel est l'intérêt de l'utilisation des dosages radio-immunologiques pour formuler un diagnostic ?

Pour répondre à cette question, on doit d'abord définir quelques termes fondamentaux illustrés dans la partie théorique de ce mémoire.

Partie théorique

I. Les immunodosages :

1.1. Principes :

La radio-immunologie en associe deux :

- La première est biologique : elle utilise des réactions d'anticorps très spécifiques, lesquels permettent l'identification d'une substance organique donnée.
- Le second est physique : il s'agit de marquer ces substances en introduisant dans leurs molécules des atomes radioactifs.

Cette technique, mise au point par YALOW et BERSON(1960) pour doser l'insuline est ensuite appliquée à de nombreuses autres hormones peptidiques. Actuellement de nombreuses substances autres que les peptides sont dosées par cette méthode.

TCHOBROUSKY(1969), FRANCHIMWT(1970), et VERDY(1971) résument aussi le principe de la technique RI, on dispose d'une quantité connue d'hormone tous purifiée, d'une quantité égale de la même hormone marquée, et d'anticorps spécifiques ; l'hormone marquée, donne le complexe antigène marqué-anticorps ; or l'hormone marquée libre et le complexe hormone marquée-anticorps peuvent être séparés par électrophorèse sur papier ou par immuno-precipitation (cas des hormones peptidique).⁽⁸⁾

On peut donc mesurer la radioactivité dans chacune de ces deux fractions isolée et calculer le rapport

$$R = \frac{\text{Radioactivité liée}}{\text{Radioactivité libre}}$$

- Cas des hormones peptidiques :
Si on refait cette réaction en mettant à la fois de l'hormone froide et de l'hormone marquée, une compétition s'établit entre elles pour se fixer sur l'anticorps.

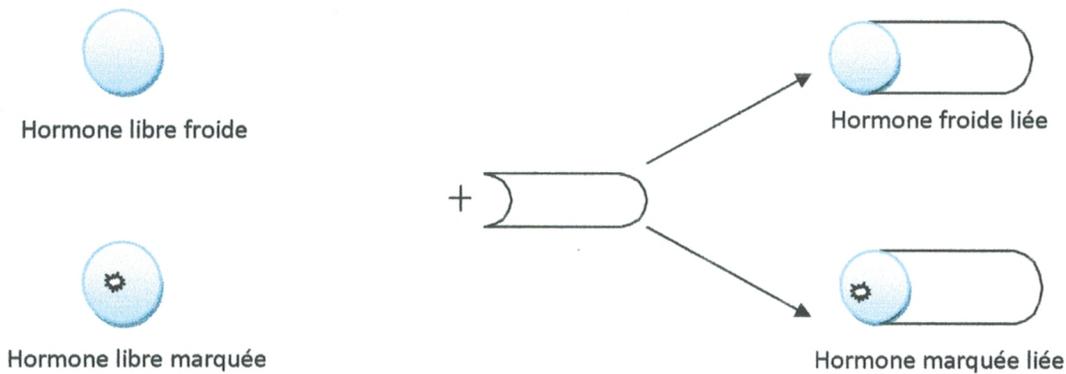


Figure 1. Principe général des dosages radio-immunologiques⁽¹²⁾

L'hormone libre non marquée se fixe préférentiellement sur l'anticorps de façon inversement proportionnelle à la quantité d'hormone libre marquée ajoutée au milieu R sera d'autant plus faible que la quantité d'hormone libre froide ajoutée sera plus grande.

Dans un tel dosage, on se réfère toujours à la courbe de décroissance de R, construite à partir de quantité croissante d'hormone libre non marquée ajoutées au milieu d'incubation et dont l'allure est la suivante:

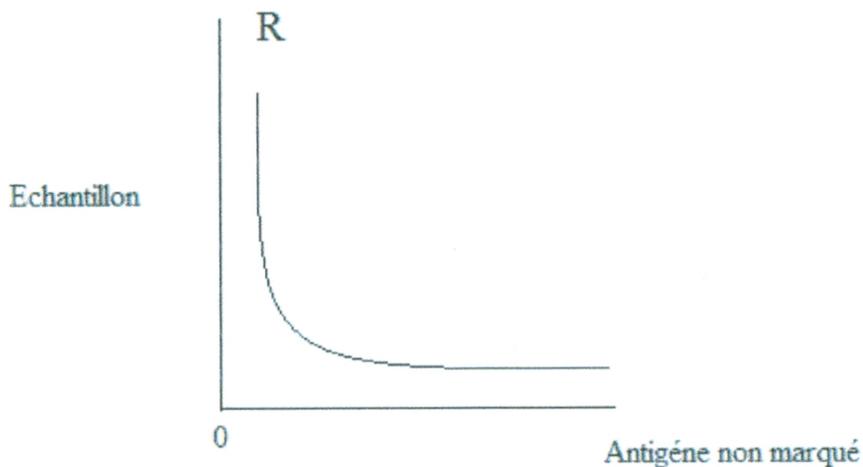


Figure 2. La courbe décroissante du R

1.2.2 Méthode immunométrique à deux sites ou méthode dite « SANDWICH » ou méthode par excès d'anticorps (IRMA) :

Ces méthodes connaissent un grand développement depuis l'utilisation des anticorps monoclonaux on met en présence :

- Un antigène Ag⁰(la molécule à doser)
- Un excès d'anticorps ou premier anticorps ou anticorps liant (fixé sur un support) : leur quantité doit être calculée de telle façon que le nombre de sites de liaison disponible soit supérieur au nombre de molécules d'antigènes (molécule a doser) qui vont se fixer sur les sites anticorps.
- Un deuxième anticorps « marqué » qui va « s'accrocher a l'antigène, prenant ainsi en sandwich »⁽¹⁰⁾

principe :

Ac adsorbé en excès sur support, liaison de l'Ag, lavage, addition en excès du 2° Ac marqué.

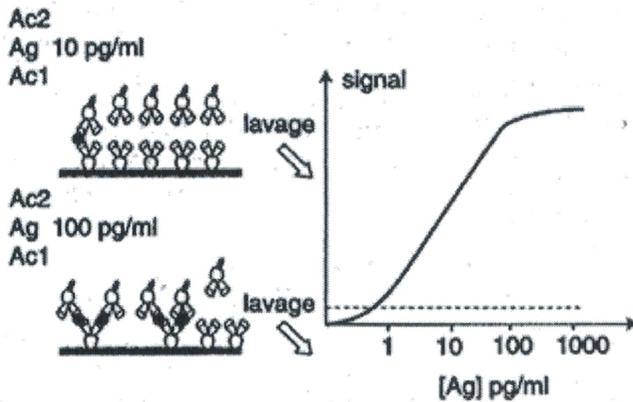


Figure .4.Principe du dosage IRMA⁽¹²⁾

Le contrôle de qualité des dosages radio-immunologiques

Avantages : de cette technique sont :

- 1- Ceux dus à l'utilisation des anticorps monoclonaux en effet, l'utilisation de deux anticorps monoclonaux dirigé contre deux épitopes antigéniques différentes améliore d'une façon très importante la reconnaissance spécifique de nombreuses molécules complexes en cancérologie mais aussi en hormonologie (TSH, FSH, LH, HCG).
- 2- Ceux dus à l'amélioration de la détection qui permet d'augmenter les sensibilités des dosages.
- 3- Augmentation de la spécificité.
- 4- Augmentation de détectabilité.
- 5- Erreurs sur les basses valeurs plus faibles.
- 6- K n'est plus limitant (réactifs en excès).
- 7- Extension du domaine de mesure.

Inconvénients :

- 2 épitopes immunogènes par molécule.
- Production de 2 anticorps spécifiques et non interférents.
- Quantités élevées d'anticorps.
- Effet Hook :> limite de linéarité.⁽¹¹⁾

1.3. Les méthodes immuno-enzymatiques

La méthode immuno-enzymatique ELISA (de l'anglais enzyme-linked immunosorbent assay, littéralement « dosage d'immunoabsorption par enzyme liée », c'est-à-dire dosage immuno-enzymatique sur support solide) est un examen de laboratoire. Cette méthode est principalement utilisée en immunologie pour détecter la présence d'un anticorps ou d'un antigène dans un échantillon.

1.3.1. Principe :

Ce test entre dans le cadre plus général des EIA (enzyme immunoassays), dans lequel le dosage est couplé à une réaction catalysée par une enzyme qui libère un composant coloré suivi par une spectroscopie, par opposition aux RIA (radio immunoassays) dans lesquels l'anticorps est marqué par un radioélément et dont le dosage mesure un nombre de désintégrations par secondes.

L'ELISA est une technique biochimique utilisant un ou deux anticorps. L'un de ceux-ci est spécifique de l'antigène, tandis que l'autre réagit aux complexes immuns (antigène-anticorps) et est couplé à une enzyme. Cet anticorps secondaire, responsable du nom de la technique, peut aussi causer l'émission d'un signal par un substrat chromogène ou fluorogène.⁽¹²⁾

1.3.2. ELISA indirecte :

Les étapes de l'ELISA dite indirecte, la plus couramment utilisée, pour déterminer la concentration en anticorps du sérum sont :

1. l'application d'un échantillon d'un antigène connu sur une surface, le plus souvent celle d'un puits d'une plaque de microtitration. L'antigène est fixé à la surface, de façon à le rendre immobile.
2. le recouvrement des puits (ou toute autre surface) par les échantillons de sérum à tester (ou tout autre solution à tester), dont la concentration en anticorps est, par définition, inconnue, et habituellement diluée dans le sérum d'une autre espèce. L'utilisation de sérum non-humain empêche la liaison à l'antigène par des anticorps non-spécifiques contenus dans le sang du patient.
3. le rinçage de la plaque, de façon à retirer les anticorps non liés. Après rinçage, seuls les complexes antigène-anticorps demeurent attachés à la surface du puits.
4. l'ajout aux puits des anticorps secondaires qui se lieront à l'anticorps primaire, (il s'agit dans ce cas d'une antiglobuline). Ces anticorps secondaires sont couplés à l'enzyme modificatrice de substrat qui permet de suivre l'évolution de la réaction.
5. le second rinçage de la plaque, de sorte à éliminer les anticorps non liés.
6. l'application d'un substrat qui, s'il est converti par l'enzyme, émet un signal chromogénique ou fluorescent.
7. la quantification du résultat, à la vue ou, le plus souvent, par spectrophotométrie ou tout autre appareil d'optique.⁽¹⁰⁾

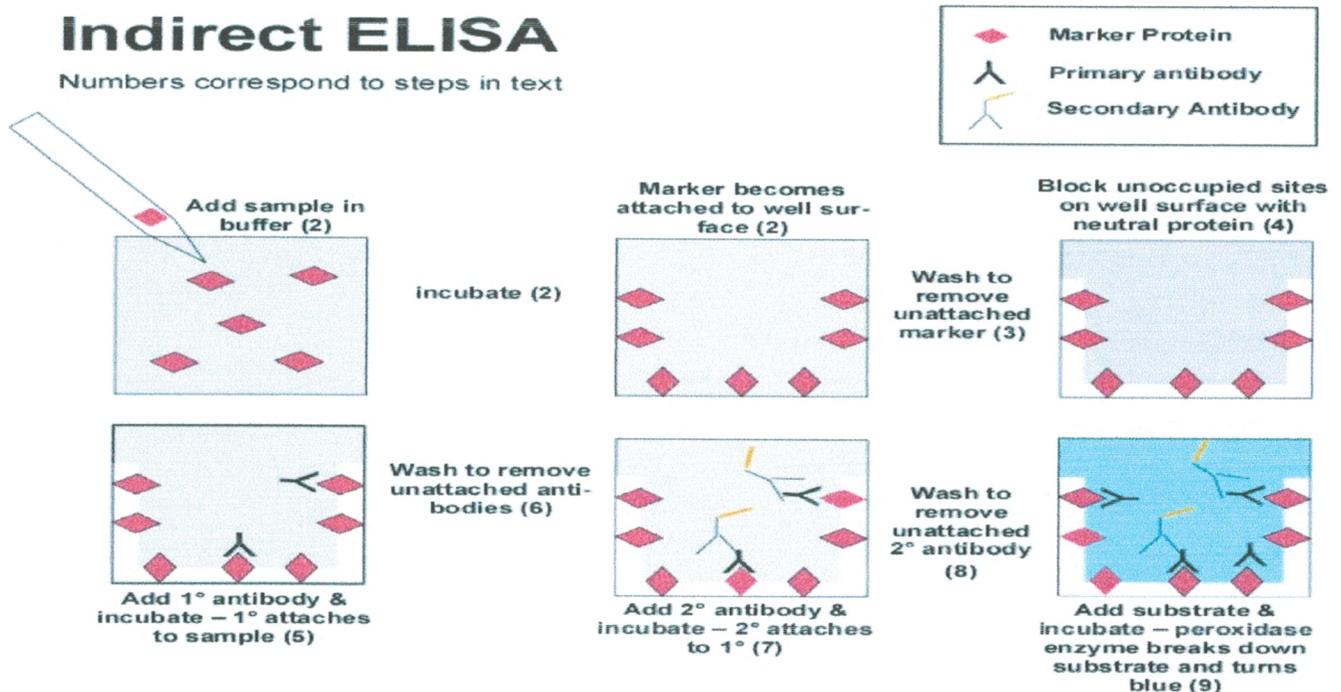


Figure.5.Principe ELISA indirect⁽¹²⁾

L'enzyme agit comme amplificateur : quand bien même peu d'anticorps conjugués à l'enzyme seraient attachés, l'enzyme catalyserait la formation de nombreux signaux, ce qui rend ce test très sensible, mais augmente également le nombre de faux positifs. Il faut donc, comme d'habitude, prévoir des puits « contrôle ».

L'ELISA peut être réalisé à visée quantitative ou qualitative :

- un résultat qualitatif indiquera la présence ou l'absence d'un antigène dans l'échantillon. Les valeurs-seuil sont déterminées par l'analyste et peuvent être basées sur la statistique. Deux ou trois écarts-types sont généralement utilisés pour distinguer l'échantillon positif du négatif.
- dans l'utilisation quantitative de l'ELISA, la densité optique ou les unités de fluorescence de l'échantillon sont interpolées sur une courbe d'étalonnage, en général une dilution sérielle de la cible.

Applications :

- Essais quantitatifs (dosages) ; On utilise l'ELISA direct pour le dosage de protéines variées.
- Essais qualitatifs (dépistage)⁽¹³⁾

1.3.3. ELISA en sandwich :

L'ELISA en sandwich est une variante moins commune (en clinique) de cette technique, utilisée afin de détecter un échantillon d'antigène dans le sérum ou tout autre échantillon. Cette technique est par contre d'un usage très courant en recherche.

Le procédé se déroule, dans ses grandes lignes, comme suit :

1. Une surface est préparée et une quantité connue d'anticorps dit de capture y est liée.
2. L'échantillon contenant l'antigène est appliqué à la plaque.
3. La plaque est rincée, de façon à éliminer l'antigène non lié.
4. Les anticorps conjugués à l'enzyme sont ajoutés.
5. La plaque est rincée une deuxième fois.
6. Le substrat convertible par l'enzyme en signal fluorescent est ajouté.
7. Le résultat est analysé « à l'œil » ou dans un spectrophotomètre spécialement conçu pour accepter directement les plaques de 96 puits.

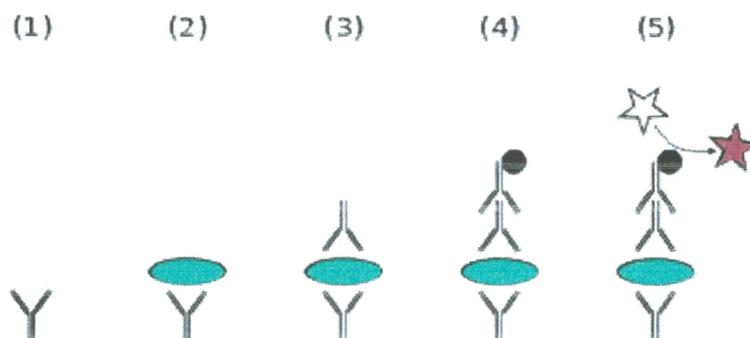


Figure .6.Principe d'ELISA sandwich⁽¹²⁾

Toutefois, ainsi qu'illustré, il existe le plus souvent une étape supplémentaire, l'addition d'anticorps de détection, afin d'éviter de créer des anticorps conjugués à l'enzyme pour chaque antigène. L'utilisation d'une enzyme couplée reconnaissant la fraction Fc des autres anticorps permet de l'utiliser dans une variété de situations et de réduire le coût de la procédure.⁽¹⁵⁾

1.3.4. ELISA par compétition :

Une troisième utilisation de l'ELISA se fait par compétition de liaison. Elle permet le dosage d'un antigène :

1. Une plaque est préparée sur laquelle sont fixés des anticorps (en défaut).
2. Un mélange d'antigènes marqués et des antigènes à doser (non marqués) est déposé sur la plaque.
3. La plaque est rincée, de sorte que les antigènes non liés aux anticorps sont éliminés.

La compétition joue donc entre les antigènes marqués (en quantité connue) et non marqués (en quantité à déterminer) pour leur liaison aux anticorps, qui sont en défaut. Ainsi plus les antigènes à doser sont nombreux, plus leur proportion parmi les antigènes retenus par les anticorps est grande, et plus le signal sera faible. Inversement, si la concentration initiale de l'antigène est faible, le signal sera fort.⁽¹⁵⁾

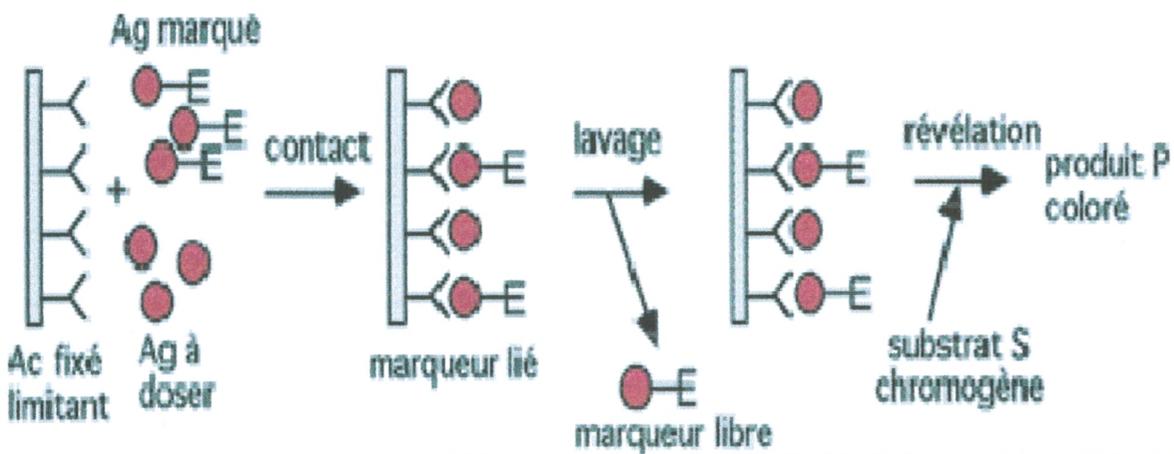


Figure .7.principe ELISA par compétition ⁽¹²⁾

1.3.5. Avantages de la technique :

- L'utilisation d'anticorps monoclonaux rend la détection spécifique.
- Possibilité de quantifier grâce à la réalisation d'une gamme en parallèle.
- L'utilisation d'anticorps secondaires rend la technique sensible.
- technique accessible à tous les biologistes.
- La détection du signal ne nécessite pas la présence d'appareillage spécialisé.
- La validité des trousseaux est d'environ 1 an.

1.3.6. Inconvénients de la technique:

- La limite de détection est moins bonne que la technique RIA.
- La réaction enzymatique rend cette technique dépendante de la température, du pH et de l'éclairement.⁽¹⁶⁾

1.4. Substance étalon, molécule à doser de concentration connue.

Une gamme d'étalonnage réalisée en introduisant l'antigène à doser à une concentration permet de quantifier de manière absolue les résultats obtenus dans l'échantillon à doser.⁽¹⁷⁾

1.5. Détection de la radioactivité :

Pour détecter la R.I.A beta ou gamma il faut :

- La faire réagir avec de la matière pour obtenir un effet connu, quantifiable.
- Contrôler cet effet, le compter et le mettre en relation avec la radioactivité qui la génère.

⇒ Il faut donc fabriquer un détecteur

Pour cela il nous faut :

- Un milieu d'interaction protégé.
- Un système pour récupérer le signal et le traiter.
- Un système qui transforme le signal traité en information.

Parmi ces détecteurs nous distinguons :

- 1- Les scintillants.
- 2- Les détecteurs à scintillation.
- 3- Les compteurs de laboratoire Gamma et Beta.

1.6. Le signal radioactif :

L'immunoanalyse est un ensemble de méthode mettant en œuvre des anticorps qui vont aller se fixer spécifiquement sur des antigènes témoins dans la molécule que l'on veut doser.

Le signal marqueur ou traceur, a pour but de quantifier la formation du complexe. Ag-Ac et d'accéder aussi au résultat.

.Le signal :

Le signal utilisé est à l'origine de la dénomination d'un certain nombre de méthode :

- Radio éléments (isotope radioactif): RIA Radio immuno-assay et IRMA immuno radio metric assay.
- Enzyme E I A: Enzyme immuno assay.
- Fluorophors F I A: Fluoro immuno assay.
- Molécule chimiluminiscent C L I A : Chemi lumino immuno assay.

Le contrôle de qualité des dosages radio-immunologiques

Tous traceur émet un signal physique puissant ou faible, direct ou indirect, spontané ou provoqué, sensible ou non au milieu dans lequel il se trouve. Le signal physique est ensuite mesuré au moyen d'un instrument puis converti en « résultat ». Au cours de la chaîne de conversion apparaissent différents « bruit ou parasite » qui peuvent modifier ou dégrader la mesure.

En immuno-analyse les deux principaux radio éléments utilisés sont l'iode 125 (^{125}I) et le tritium (^3H)

Les rayonnements sont divisés en deux grandes classes :

Rayonnement électromagnétique avec les gammas et les X : Les gammas sont d'origine nucléaire.

Les X sont d'origine atomique.

Les rayonnements particuliers, chargés : En médecine ce sont essentiellement les électrons négatifs ou β qui sont utilisés.

A- E-Les signaux isotopiques

-Le tritium est un émetteur β négatif : son utilisation n'est pas très répandue malgré la qualité remarquable de se substituer naturellement aux atomes constitutifs de la molécule étudiée (les atomes d'hydrogènes) sans altérer sa conformation.

-L'iode 125 émet un rayonnement électromagnétique gamma ; la molécule d'iode 125 est accolée à celle que l'on veut étudier. Son utilisation est très répandue en raison de ses qualités.

B- Le signal enzymatique:

Aucune contrainte d'utilisation administrative mais il n'émet pas de signal physique direct.

C- Le signal fluorescent c'est un signal direct pas de contrainte d'utilisation mais le flux excitateur peut ne pas être constant, la sensibilité et la spécificité peuvent être altérées en raison de l'interférence possible de fluorescence parasite.

D- Le signal chimiluminescent : C'est un signal direct, la spécificité de l'émission est meilleure que celle du signal fluorescent mais il y a fugacité de l'émission donc perte rapide de l'information.⁽¹⁷⁾

II. Contrôle de qualité :

Lors de la mise au point au laboratoire d'un dosage radioimmunologique ou lors de l'essai d'une trousse commerciale, il est nécessaire et indispensable de définir les caractéristiques, les qualités de la méthode que l'on se propose d'employer ou de vérifier celles indiquées par le fabricant de la trousse.

Lorsque la méthode est définitivement admise, le contrôle de qualité s'organise.

2.1. Erreur systématique :

Ecart toujours de même signe entre un résultat et la valeur vraie.

Les paramètres entraînant une erreur systématique:

- L'étalon : identité de structure entre la molécule étalon et la molécule à doser
 - : Identité de comportement
 - : Conservation
- L'AC: l'utilisation d'un AC peu spécifique donne des résultats plus élevés.

- Matériel : pipettes non calibrées.
- Echantillon: présence d'auto AC.

Les erreurs systématiques modifient l'exactitude d'un résultat.⁽¹⁸⁾

2.2. Erreur aléatoire:

Ecart de signe et de grandeur imprévisible entre un résultat et la valeur vraie.

Facteurs responsables :

- Opérations de distribution des volumes des différents réactifs.
- La méthode de séparation.
- Les erreurs de mesure du signal.

L'erreur aléatoire estime la précision de la technique.

- L'erreur est plus faible quand le comptage est plus long

- Une source radioactive, comptée plusieurs fois, ne donne pas toujours les mêmes coups.

Le contrôle de qualité des dosages radio-immunologiques

Une source radioactive contient un grand nombre d'atomes. Une petite fraction subit une désintégration à un temps donné.

Le nombre d'atomes qui se désintègre en un temps donné n'est pas constant.

Donc il y a une erreur due à la nature aléatoire de la décroissance radioactive.

Erreur due à la nature aléatoire de la décroissance radioactive: CV_r

Coups (n)	D.S. = \sqrt{n}	Erreur relative% = $CV_r = DS/Coups \times 100$
100	10	10
500	22	4.5
1 000	32	3.2
2 000	45	2.2
5 000	71	1.4
10 000	100	1.0
20 000	141	0.7
40 000	200	0.5
100 000	316	0.3

Distribution de poisson D.S. = $\sqrt{\text{coups}}$

% = $CV_r = (DS/\text{coups}) \times 100 = (\sqrt{\text{coups}} / \text{coups}) \times 100$

Exemple: $CV_T = (\sqrt{4654/4654}) \times 100 = 1,47\%$

L'écart - type D.S ou la variance DS^2 est la somme de 2 termes :

- Le 1^{er} est dû à l'erreur de comptage : CV_{ct}
- Le 2^{ème} est dû aux erreurs expérimentales (mesure des volumes de réactifs, séparation des formes libre et liée)

$$CV_t^2 = CV_{ct}^2 + CV_{exp}^2$$

$$CV_t^2 = [CV_r^2 + CV_c^2] + CV_{exp}^2 \quad (2)$$

2.3. Exactitude :

Qualité de l'accord entre la valeur mesurée et la valeur " vraie " ou la valeur " estimée au mieux" de la valeur vraie.

Il existe des substances pour lesquelles les méthodes permettent d'approcher la valeur vraie.

Ex: Dosage des stéroïdes par chromatographie phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.⁽¹⁸⁾

2.4. Méthodes de validation:

Emploi des tests de dilution et de surcharge.

Test de dilution

Consiste à réaliser, à partir d'échantillons de concentrations élevées, une série de dilutions dans un milieu adéquat.

La relation entre la concentration observée et la dilution est une droite passant par l'origine.

Test de surcharge ou récupération

Consiste à ajouter à un échantillon de faible concentration, des quantités connues d'étalon.⁽³⁾

2.5. Précision

Qualité de l'accord, dans une zone définie de concentrations, entre des mesures répétées effectuées sur le même échantillon, dans des conditions déterminées.

Pour apprécier la précision, il faut:

-répéter les mesures sur le même échantillon

- calculer SD ou CV de la distribution des valeurs expérimentales
- effectuer cette opération à plusieurs niveaux de concentration.

Profil de précision

Un procédé pour apprécier la précision consiste à construire un profil d'erreur sur toute la gamme de concentration.

Procédé rendu nécessaire par le fait que:

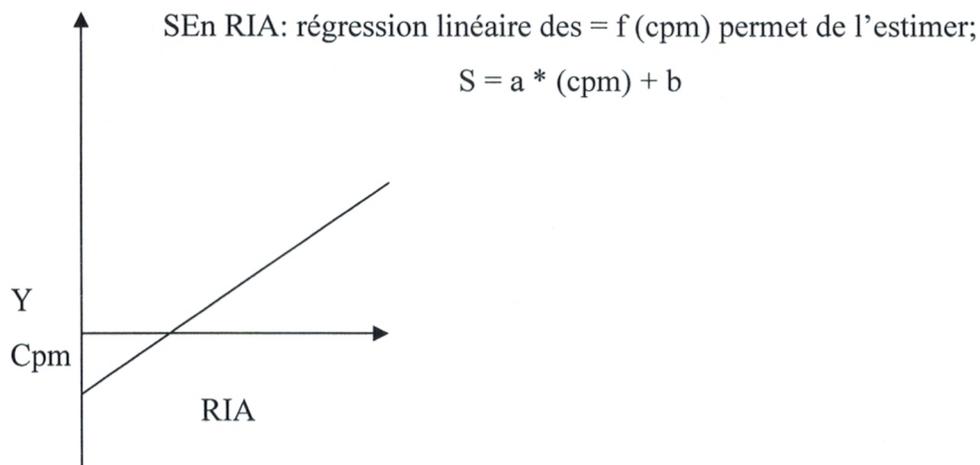
- la fonction d'étalonnage n'est pas linéaire
- l'erreur commise sur la mesure de la réponse augmente en même temps que l'intensité de la réponse.

Etapas conduisant à son obtention :

- Etablissement de la R.E.R.
- Calcul à différents niveaux de concentration de l'écart-type.
- Détermination de la pente de la courbe d'étalonnage.
- Tracé de la courbe de variation de l'écart-type (R.E.R) en fonction de la concentration.

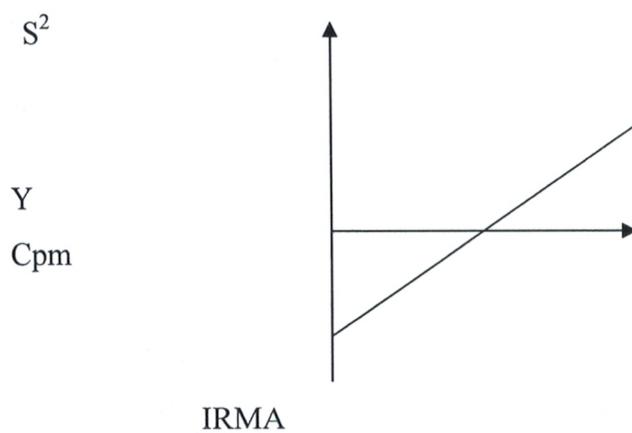
Courbe RER

- Erreur sur la réponse: l'erreur est % au nombre d'impulsions.
- Courbe de variation de S ou S^2 en fonction de la réponse.



Graphe.1 représente la courbe RER du dosage RIA

- En IRMA, une régression linéaire de S^2 Permet de mieux l'estimer : la dynamique de réponse est plus grande. $S^2 = a * cpm^b$



$$\text{Log } S^2 = \text{log } a + b \text{ log } y$$

Graphe.2 représente la courbe RER du dosage IRMA

Courbe RER

Permet de valider le dosage :

Test utilisés :

Comparaison de la variance calculée par régression et de la variance mesurée sur

Les nombres de répliques par :

Le test F

Le test khi²

Permet d'estimer l'intervalle de confiance d'un résultat :

$$Y_s = y + Z_{\alpha/2} \sqrt{S_y^2} \text{risque} = 0.05$$

$$n \quad Z_{\alpha/2} = 1.96$$

Sy = écart – type

$$Y_i = y - Z_{\alpha/2} \sqrt{S_y^2} \quad \text{calculé par RER}$$

$$n \quad y = \text{cpm}$$

n = réplique

Courbe RER :

Permet d'estimer l'erreur sur la concentration :

- Courbe standard

$$Y = f \odot$$

Avec enveloppe $y_s = f \odot$

$$Y_i = f \odot$$

- Interpolation des résultats.
- Calcul de l'erreur sur la concentration

$$\Delta C = S_y / \text{pente}^{(19)}$$

2.6. Sensibilité :

- Variation minimale qu'il faut imposer à la concentration pour obtenir une variation significative de la réponse.
- Dépend du niveau de concentration.
- Fait intervenir la pente de la courbe étalon et la précision avec laquelle on connaît cette pente.
- Est déduite du profil de précision.

Sensibilité analytique :

- Bruit de fond du standard zéro: moyenne + 2 (3) écart-types.
- Intra-essai (10 ou 20 mesures).
- Théorique.
- Ne permet pas de comparer rigoureusement la sensibilité de deux techniques.

Facteurs techniques qui jouent sur la sensibilité d'un jour à l'autre

- Différences de lot.
- Age des réactifs.
- Précision de pipetage (manuel), qualité des étapes de lavage.
- Facteurs instrumentaux pour un automate.
- Facteurs environnementaux (température).⁽²⁰⁾

2.7. Spécificité :

Aptitude à mesurer l'analyse désirée et seulement celui-ci, même en présence de substances de structure voisine.

-Elle est liée à la nature des AC.

-Elle est estimée par la mesure des réactions croisées.

Contrôle de qualité

- Ensemble de mesures accompagnant le dosage permettant
 - au fabricant de mettre sur le marché la trousse
 - à l'utilisateur de maîtriser les erreurs systématiques et aléatoires.
- Accès simple
- Non fastidieux.
- Raisonnable.

Le contrôle fait appel à des sérums de contrôle :

- achetés
- obtenus en mélangeant un grand nombre de sérums (pools).

Le contrôle de qualité renferme:

- La reproductibilité
- La stabilité de la courbe d'étalonnage.
- La dérive.
- L'exactitude

Contrôle de la stabilité de la courbe d'étalonnage

- % liaison B₀/T
- % liaison non spécifique NSB/T
- % fixation de chaque étalon.

Valeurs en concentration obtenues pour 20% 50% 80%

Contrôle de la dérive

En positionnant le même sérum de contrôle au début et à la fin de la série

CV < 15%

Contrôle de l'exactitude:

Le contrôle de l'exactitude utilise les valeurs fournies par les sérums de contrôle.

Des cartes sont établies pour chaque niveau de concentration à l'aide de la moyenne ainsi que des limites acceptables déterminant les seuils d'alarme ou de rejet.

Les limites choisies sont à ± 3 écart-type.

Critères de rejet

L'ensemble de la série est rejeté:

- quand un sérum de contrôle est extérieur à l'intervalle $[x \pm 3 \text{ DS}]$
- quand deux sérums de contrôle sont à l'extérieur et du même côté de l'intervalle $[x \pm 2 \text{ DS}]$
- quand trois sérums de contrôle sont à l'extérieur et du même côté de l'intervalle $[x \pm 1 \text{ DS}]$ ⁽²¹⁾

Partie pratique

Le service de médecine nucléaire CHU Tlemcen est doté d'un compteur Gama WIZARD 2470 AUTOMATIC GAMA CONTER a permet de réaliser un dosage de l'hormone TSH d'une population donnée par la technique IRMA.

Nous signalons que le compteur Gama peut effectuer aussi des dosages RIA.

1. Matérielles et mode opératoire :

Le dosage radioimmunologique de la TSH est un dosage de type sandwich. la trousse utilise des anticorps monoclonaux de souris dirigés contre deux épitopes différent de la molécule et réagissant sans compétition. Dans des tubes recouverts d'un premier anticorps monoclonal marqué à l'iode 125. Après incubation, le contenu des tubes est vidé par aspiration, les tubes sont rincés pour éliminer les anticorps marqué non fixe et la radioactivité liée est mesurée.

Les valeurs inconnues sont déterminées à l'aide de la courbe calibrateur. La quantité de radioactivité est directement proportionnelle à la concentration de TSH dans l'échantillon.

1.1 Matérielles

- TROUSSE IRMA TSH IMMUNOTECH fournie par BECKMAN COULTER

La trousse immunoradiométrique pour le dosage in vitro de la TSH dans le sérum et le plasma humain est conservée non ouvert à 2-8°C

Le kit contient :

1. 100 tubes : les tubes sont revêtus d'anticorps monoclonal anti-TSH
2. Anticorps monoclonal anti-TSH marqué à l'iode 125 : 1 flacon de 5.5ml (Prêt à l'emploi).

Le flacon contient 370 kBq d'immunoglobines marqué à l'iode 125, en début de lot, sous forme liquide avec des protéines, de l'azide de sodium (inférieure à 1%) et un colorant.

3. Calibrateurs : 7 flacons de 1ml (prêt à l'emploi)

Les flacons de Calibrateurs contiennent entre 0 et 50 $\mu\text{UI/L}$ de TSH d'origine humaine dans du sérum humain. La concentration exacte est indiquée sur l'étiquette de chaque flacon

$C_0 = 0 \mu\text{UI/L}$ (Blanc) ; $C_1 = 0.15 \mu\text{UI/L}$; $C_2 = 0.5 \mu\text{UI/L}$; $C_3 = 1.5 \mu\text{UI/L}$; $C_4 = 5.0 \mu\text{UI/L}$;

$C_5 = 15 \mu\text{UI/L}$; $C_6 = 50 \mu\text{UI/L}$

Les standards ont été calibrés par rapport au standard international WHO94/632

Le contrôle de qualité des dosages radio-immunologiques

4. Solution de lavage (*20) : 1 flacon de 50ml à diluer avant l'usage

5. Sérums de contrôle : 2 flacons (lyophilisés)

Les flacons contiennent de la TSH lyophilisée dans du sérum humain. Les valeurs attendues sont comprises dans la fourchette de concentration indiquée sur le supplément.

Pour le SERUM₁ = 1.36 et 2.04 μ UI/L

Pour le SERUM₂ = 11.7 et 17.5 μ UI/L

- Matérielle de laboratoire

En plus de l'équipement de laboratoire usuel, il est nécessaire d'utiliser le matériel suivant :

- Micropipette de précision (100 μ L).
- Pipettes semi-automatiques (50 μ L).
- Mélangeur de type vortex.
- Agitateur à mouvement de va et vient horizontal.
- System d'aspiration.
- Compteur Gama

1.2. Mode opératoire :

Etape 1 Répartition*	Etape 2 Incubation	Etape 3 Comptage
Dans les tubes recouverts d'anticorps, distribuer successivement : -100 μ L de calibrateur, de contrôle ou d'échantillon et -100 μ L de traceur. Agiter	Incuber 60minutes à 18-25°C Avec agitation (> 280 rpm rpm)	Aspirer soigneusement le contenu de chaque tube (sauf les 2 tubes -cpm totaux-). Laver deux fois avec 2mL de solution de lavage. Compter les cpm (B) et les cpm totaux (T) pendant 1min.

2. Résultats

Les résultats sont déduits de la courbe standard par interpolation. La courbe sert à déterminer les taux de TSH de tous les échantillons mesurés en même temps que les calibrateurs.

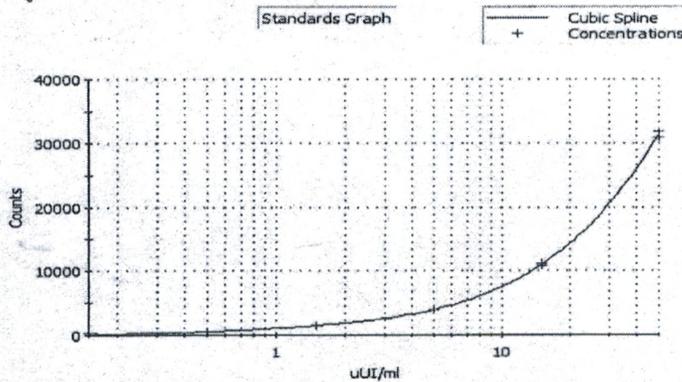
Les malades sont dosés en double pour avoir une moyenne pour chaque patient.

Les résultats et la courbe d'étalonnage sont représentés dans les figures 9, 10, 11, 12 et la figure 8 respectivement à l'aide du compteur Gama (WIZARD 2470 automatic gamma) du service de médecine nucléaire C.H.U.T. La date du dosage est le Mercredi 11/06/2013 à 12 :08 PM.

ITSH (142).ars (ITSH)

Wednesday, June 19, 2013 12:08:06 PM

Assay Protocol Name:	ITSH
Readings:	Endpoint: Counts [10x4]
Well Types:	<input type="radio"/> Unused <input checked="" type="radio"/> Unknown <input type="radio"/> Blank <input checked="" type="radio"/> Standard <input type="radio"/> B0
Transformations:	Matrix Expression (x-Blank1) %CV (Calculates %CV of Counts) Standard Curve Fit (Cubic Spline, Log Smoothness 0. with Standard)



Standards Graph

MSE	7.60822
R ²	1.0000
SS	15.6493
SYX	2.7583

Fit Results

Groups	Wells	Concentrations	Counts	Standard Error (+/-)
● Standard1	A5, A6	0.15	290.18	3.74
● Standard2	A7, A8	0.5	531.87	3.74
● Standard3	A9, A10	1.5	1468.68	15.85
● Standard4	B1, B2	5	3924.48	15.85
● Standard5	B3, B4	15	10886.5	35.965
● Standard6	B5, B6	50	31353.6	35.965

Data Points for Cubic Spline, Log Smoothness 0. with Standard

Figure.8. La courbe d'étalonnage du TSH par technique IRMA

Le contrôle de qualité des dosages radio-immunologiques

ITSH (142).ars (ITSH)

Wednesday, June 19, 2013 12:08:06 PM

Group	Wells	Plate	Counts	x-Blank	%CV	Concs. (uUI/ml)
● B01	A1, A2	1	137106, 153535	145067	7.99	45642.99
● Blank1	A3, A4	1	164.11, 342.66	0	49.83	0.20
● Standard1	A5, A6	1	286.44, 293.92	36.795	1.82	0.20
● Standard2	A7, A8	1	516.02, 547.72	278.485	4.21	0.50
● Standard3	A9, A10	1	1432.71, 1504.64	1215.29	3.46	1.50
● Standard4	B1, B2	1	3967.85, 3881.12	3671.1	1.56	5.01
● Standard5	B3, B4	1	11040, 10733.2	10633.2	1.99	14.99
● Standard6	B5, B6	1	30836.8, 31870.4	31100.2	2.33	50.26
● Unknown1	B7, B8	1	1495.16, 1477.08	1232.74	0.86	1.52
● Unknown2	B9, B10	1	146.28, 218	-71.245	27.84	0.09
● Unknown3	C1, C2	1	651.68, 690.44	417.675	4.08	0.63
● Unknown4	C3, C4	1	238.67, 230.65	-18.725	2.42	0.11
● Unknown5	C5, C6	1	198.02, 150.03	-79.36	19.50	0.08
● Unknown6	C7, C8	1	1390.57, 1388.83	1136.32	0.09	1.40
● Unknown7	C9, C10	1	155.46, 120.42	-115.445	17.96	0.07
● Unknown8	D1, D2	1	210.61, 235.6	-30.28	7.92	0.11
● Unknown9	D3, D4	1	1467.41, 1557.67	1259.16	4.22	1.56
● Unknown10	D5, D6	1	1448.94, 1563.12	1252.65	5.36	1.55
● Unknown11	D7, D8	1	233.67, 222.55	-25.275	3.45	0.11
● Unknown12	D9, D10	1	154.28, 152.47	-100.01	0.83	0.08
● Unknown13	A1, A2	2	5534.46, 5535.78	5281.73	0.02	7.32
● Unknown14	A3, A4	2	239.26, 255.97	-5.77	4.77	0.12
● Unknown15	A5, A6	2	2012, 2000.12	1752.68	0.42	2.25
● Unknown16	A7, A8	2	270.05, 136.16	-50.28	46.61	0.10
● Unknown17	A9, A10	2	276.47, 306.2	37.95	7.22	0.21
● Unknown18	B1, B2	2	232.58, 287.77	6.79	15.00	0.13
● Unknown19	B3, B4	2	128.96, 260.02	-58.895	47.65	0.10
● Unknown20	B5, B6	2	249.93, 165.7	-45.57	28.66	0.10
● Unknown21	B7, B8	2	209.75, 220.85	-38.085	3.65	0.10
● Unknown22	B9, B10	2	102.43, 177.41	-113.465	37.89	0.07
● Unknown23	C1, C2	2	1463.32, 1537.04	1246.8	3.47	1.54
● Unknown24	C3, C4	2	204.46, 201.19	-50.56	1.14	0.10
● Unknown25	C5, C6	2	756.91, 772.41	511.275	1.43	0.71
● Unknown26	C7, C8	2	3223.94, 3258.35	2987.76	0.75	4.03
● Unknown27	C9, C10	2	1255.18, 1388.54	1068.47	7.13	1.32
● Unknown28	D1, D2	2	1192, 1237.19	961.21	2.63	1.19
● Unknown29	D3, D4	2	296.04, 563.35	176.31	43.99	0.39
● Unknown30	D5, D6	2	1297.96, 735.67	763.43	39.10	0.99
● Unknown31	D7, D8	2	3006.57, 3082.76	2791.28	1.77	3.74
● Unknown32	D9, D10	2	1142.95, 1057.39	846.785	5.50	1.06
● Unknown33	A1, A2	3	1016.76, 915.56	712.775	7.41	0.92
● Unknown34	A3, A4	3	1870.16, 1830.94	1597.17	1.50	2.03
● Unknown35	A5, A6	3	4576.68, 4694.52	4382.22	1.80	6.03
● Unknown36	A7, A8	3	20165.5, 21178.6	20418.7	3.47	30.33
● Unknown37	A9, A10	3	1960.34, 2063.6	1758.59	3.63	2.26
● Unknown38	B1, B2	3	1775.49, 2144.01	1706.37	13.30	2.18
● Unknown39	B3, B4	3	4070.78, 4267.48	3915.74	3.34	5.36
● Unknown40	B5, B6	3	1970, 1815.35	1639.29	5.78	2.09
● Unknown41	B7, B8	3	273.42, 229.64	-1.855	12.31	0.12
●	B9, B10	3	9758.24, 9192.33	9221.9	4.22	12.95

Figure .9. Resultats du dosage du TSH par IRMA n°1

Le contrôle de qualité des dosages radio-immunologiques

ITSH (142).ars (ITSH)

Wednesday, June 19, 2013 12:08:06 PM

Group	Wells	Plate	Counts	x-Blank	%CV	Concs. (uUI/ml)
Unknown42						
Unknown43	C1, C2	3	3178.38, 3059.42	2865.51	2.70	3.85
Unknown44	C3, C4	3	2474.1, 2481.76	2224.55	0.22	2.93
Unknown45	C5, C6	3	190.82, 174.7	-70.625	6.24	0.09
Unknown46	C7, C8	3	3179.43, 3037.41	2855.03	3.23	3.84
Unknown47	C9, C10	3	184.23, 189.39	-66.575	1.95	0.09
Unknown48	D1, D2	3	1692.81, 1633.79	1409.92	2.51	1.76
Unknown49	D3, D4	3	317.22, 533.9	172.175	36.00	0.39
Unknown50	D5, D6	3	1270.91, 1310.7	1037.42	2.18	1.28
Unknown51	D7, D8	3	1506.75, 1612.56	1306.27	4.80	1.62
Unknown52	D9, D10	3	1067.02, 1137.66	848.955	4.53	1.06
Unknown53	A1, A2	4	1545.34, 1514.84	1276.7	1.41	1.58
Unknown54	A3, A4	4	2699.03, 2690.74	2441.5	0.22	3.24
Unknown55	A5, A6	4	1576.19, 1700.58	1385	5.37	1.73
Unknown56	A7, A8	4	13265.7, 14364	13561.5	5.62	19.35
Unknown57	A9, A10	4	10840, 11288.7	10811	2.87	15.25
Unknown58	B1, B2	4	10245.1, 10358.8	10048.6	0.78	14.14
Unknown59	B3, B4	4	1336.97, 1437.28	1133.74	5.11	1.40
Unknown60	B5, B6	4	5120.01, 5059.3	4836.27	0.84	6.68
Unknown61	B7, B8	4	2241.54, 2365.79	2050.28	3.81	2.68
Unknown62	B9, B10	4	756.91, 933.64	591.89	14.78	0.79
Unknown63	C1, C2	4	1091.47, 1052.76	818.73	2.55	1.03
Unknown64	C3, C4	4	1574.91, 1622.94	1345.54	2.12	1.67
Unknown65	C5, C6	4	1136.28, 1103.64	866.575	2.06	1.08
Unknown66	C7, C8	4	1364.73, 1457.45	1157.7	4.65	1.43
Unknown67	C9, C10	4	3502.35, 1592.71	2294.15	53.01	3.03
Unknown68	D1, D2	4	2374.83, 2478.95	2173.5	3.03	2.86
Unknown69	D3, D4	4	3381.46, 17.65	1446.17	139.95	2.19
Unknown70	D5, D6	4	1256.1, 1162.88	956.105	5.45	1.18
Unknown71	D7, D8	4	2990.36, 2808.8	2646.19	4.43	3.54
Unknown72	D9, D10	4	2687.7, 2663.7	2422.31	0.63	3.21
Unknown73	A1, A2	5	894.88, 869.38	628.745	2.04	0.83
Unknown74	A3, A4	5	874.03, 952.38	659.82	6.07	0.86
Unknown75	A5, A6	5	1734.06, 1939.97	1583.63	7.93	2.01
Unknown76	A7, A8	5	840.07, 1042.74	688.02	15.22	0.89
Unknown77	A9, A10	5	2366.76, 2346.02	2103.01	0.62	2.75
Unknown78	B1, B2	5	3491.58, 3715.66	3350.23	4.40	4.55
Unknown79	B3, B4	5	2952.18, 3078.08	2761.74	2.95	3.70
Unknown80	B5, B6	5	1622.22, 1690.26	1402.86	2.90	1.75
Unknown81	B7, B8	5	2949.02, 3002.86	2722.55	1.28	3.65
Unknown82	B9, B10	5	5619.53, 5431.6	5272.18	2.40	7.31
Unknown83	C1, C2	5	2818.19, 2667.33	2489.38	3.89	3.31
Unknown84	C3, C4	5	1250.52, 1122.29	933.02	7.64	1.16
Unknown85	C5, C6	5	4476.4, 4211.56	4090.59	4.31	5.61
Unknown86	C7, C8	5	140.97, 111.6	-127.1	16.45	0.07
Unknown87	C9, C10	5	166.86, 318.39	-10.76	44.16	0.18
Unknown88	D1, D2	5	2449.96, 2706.62	2324.9	7.04	3.07
Unknown89	D3, D4	5	922.31, 964.11	689.825	3.13	0.89
Unknown90	D5, D6	5	209.48, 180.75	-58.27	10.41	0.09
	D7, D8	5	150.97, 168.29	-93.755	7.67	0.08

x 1,66
x 4,24

Figure .10. Resultats du dosage du TSH par IRMA n°2

Le contrôle de qualité des dosages radio-immunologiques

ITSH (142).ars (ITSH)

Wednesday, June 19, 2013 12:08:06 PM

Group	Wells	Plate	Counts	x-Blank	%CV	Concs. (uIU/ml)
Unknown91						
Unknown92	D9, D10	5	1077.43, 778.13	674.395	22.81	0.88
Unknown93	A1, A2	6	579.56, 259.11	165.95	54.04	0.34
Unknown94	A3, A4	6	279.03, 270.1	21.18	2.30	0.14
Unknown95	A5, A6	6	261.28, 340.54	47.525	18.63	0.22
Unknown96	A7, A8	6	210.07, 289.1	-3.8	22.39	0.12
Unknown97	A9, A10	6	144.38, 162.12	-100.135	8.19	0.08
Unknown98	B1, B2	6	57446, 55539.8	56239.5	2.39	219.73
Unknown99	B3, B4	6	821.09, 348.38	331.35	57.16	0.55
Unknown100	B5, B6	6	3264.25, 3502.13	3129.8	4.97	4.23
Unknown101	B7, B8	6	144.66, 73.87	-144.12	45.81	0.06
Unknown102	B9, B10	6	640.52, 632.86	383.305	0.85	0.59
Unknown103	C1, C2	6	1283.42, 1344.52	1060.59	3.29	1.31
Unknown104	C3, C4	6	13435.2, 14152.6	13540.5	3.68	19.32
Unknown105	C5, C6	6	2879.13, 3313.19	2842.77	9.91	3.82
Unknown106	C7, C8	6	1808.58, 1924.33	1613.07	4.39	2.05
Unknown107	C9, C10	6	1029.57, 1146.35	834.575	7.59	1.05
Unknown108	D1, D2	6	1356.32, 1394.91	1122.23	1.98	1.38
Unknown109	D3, D4	6	116.1, 87.51	-151.58	19.86	0.06
Unknown110	D5, D6	6	675.59, 707.07	437.945	3.22	0.65
Unknown111	D7, D8	6	1337.38, 1653.49	1242.05	14.95	1.54
Unknown112	D9, D10	6	1742.31, 1427.73	1331.64	14.03	1.66
Unknown113	A1, A2	7	1859.48, 2029.28	1690.99	6.18	2.16
Unknown114	A3, A4	7	150.3, 145.38	-105.545	2.35	0.07
Unknown115	A5, A6	7	1276.24, 1324.58	1047.03	2.63	1.29
Unknown116	A7, A8	7	479.79, 567.61	270.315	11.86	0.49
Unknown117	A9, A10	7	10429.7, 10660	10291.5	1.54	14.50
Unknown118	B1, B2	7	2099.67, 2302.09	1947.49	6.50	2.53
Unknown119	B3, B4	7	1952.01, 2189.53	1817.39	8.11	2.34
Unknown120	B5, B6	7	9315.06, 9675.63	9241.96	2.69	12.98
Unknown121	B7, B8	7	1428.42, 1416.2	1168.93	0.61	1.44
Unknown122	B9, B10	7	3419.29, 3858.55	3385.53	8.54	4.60
Unknown123	C1, C2	7	3661.06, 3479.12	3316.7	3.60	4.50
Unknown124	C3, C4	7	2466.58, 2475.11	2217.46	0.24	2.92
Unknown125	C5, C6	7	1895.3, 2044.25	1716.39	5.35	2.20
Unknown126	C7, C8	7	1211.82, 1098.56	901.805	6.93	1.12
Unknown127	C9, C10	7	1401.41, 1646.98	1270.81	11.39	1.58
Unknown128	D1, D2	7	3052.18, 3590.61	3068.01	11.46	4.14
Unknown129	D3, D4	7	4464.81, 4511.45	4234.74	0.73	5.82
Unknown130	D5, D6	7	9039.38, 9879.06	9205.83	6.28	12.93
Unknown131	D7, D8	7	1007.48, 1288.18	894.445	17.29	1.12
Unknown132	D9, D10	7	10231.8, 10295.2	10010.1	0.44	14.09
Unknown133	A1, A2	8	2447.74, 2741.35	2341.16	8.00	3.10
Unknown134	A3, A4	8	1215.71, 1272.15	990.545	3.21	1.22
Unknown135	A5, A6	8	1336.77, 1211.39	1020.7	6.96	1.26
Unknown136	A7, A8	8	2173.38, 2353.76	2010.18	5.63	2.62
Unknown137	A9, A10	8	1359.94, 1441.31	1147.24	4.11	1.41
Unknown138	B1, B2	8	14406.2, 13826.9	13863.2	2.90	19.81
Unknown139	B3, B4	8	1980.19, 1881.08	1677.25	3.63	2.14
	B5, B6	8	1708.79, 1751.68	1476.85	1.75	1.86

x 0,38

x 0,35



Figure .11. Resultats du dosage du TSH par IRMA n°3

Le contrôle de qualité des dosages radio-immunologiques

ITSH (142).ars (ITSH)

Wednesday, June 19, 2013 12:08:06 PM

Group	Wells	Plate	Counts	x-Blank	%CV	Concs. (uUI/ml)
Unknown140						
Unknown141	B7, B8	8	585.99, 437.24	258.23	20.56	0.48
Unknown142	B9, B10	8	34636.2, 34303.33	4216.4	0.68	60.06
Unknown143	C1, C2	8	114.87, 117.07	-137.415	1.34	0.06
Unknown144	C3, C4	8	6315.38, 6378.94	6093.77	0.71	8.48
Unknown145	C5, C6	8	2599.08, 2826.18	2459.24	5.92	3.27
Unknown146	C7, C8	8	4104, 4339.56	3968.4	3.95	5.43
Unknown147	C9, C10	8	1500.36, 1549.85	1271.72	2.29	1.57
Unknown148	D1, D2	8	2685.74, 2786.73	2482.85	2.61	3.30
Unknown149	D3, D4	8	897.41, 1005.9	698.27	8.06	0.90
Unknown150	D5, D6	8	671.77, 818.04	491.52	13.88	0.70
Unknown151	D7, D8	8	4579.19, 4445.7	4259.06	2.09	5.85
Unknown152	D9, D10	8	1810.1, 1750.71	1527.02	2.36	1.93
Unknown153	A1, A2	9	492.7, 496.33	241.13	0.52	0.46
Unknown154	A3, A4	9	62.58, 63.57	-190.31	1.11	0.05
Unknown155	A5, A6	9	1035.76, 1030.75	779.87	0.34	0.99
Unknown156	A7, A8	9	488.36, 537.74	259.665	6.81	0.48
Unknown157	A9, A10	9	2838.8, 2783.1	2557.56	1.40	3.41
Unknown158	B1, B2	9	166.01, 171.01	-84.875	2.10	0.08
Unknown159	B3, B4	9	7720.5, 8338.29	7776.01	5.44	10.88
Unknown160	B5, B6	9	220.49, 216.01	-35.135	1.45	0.10
Unknown161	B7, B8	9	1441.04, 1408.11	1171.19	1.63	1.44
Unknown162	B9, B10	9	128.45, 139.07	-119.625	5.61	0.07
Unknown163	C1, C2	9	201.27, 133.05	-86.225	28.86	0.08
Unknown164	C3, C4	9	84.24, 174.65	-123.94	49.39	0.07
Unknown165	C5, C6	9	116.74, 48.94	-170.545	57.87	0.05
Unknown166	C7, C8	9	5183.84, 4824.57	4750.82	5.08	6.56
Unknown167	C9, C10	9	286.17, 266.36	22.88	5.07	0.14
Unknown168	D1, D2	9	1090.13, 1132.46	857.91	2.69	1.07
Unknown169	D3, D4	9	106.65, 101.5	-149.31	3.50	0.06
Unknown170	D5, D6	9	59.77, 91.89	-177.555	29.95	0.05
Unknown171	D7, D8	9	348.63, 160.27	1.065	52.34	0.20
Unknown172	D9, D10	9	126.62, 100.65	-139.75	16.16	0.06
Unknown173	A1, A2	10	99.23, 168.97	-119.285	36.77	0.07
Unknown174	A3, A4	10	994.04, 1002.88	745.075	0.63	0.95
Unknown175	A5, A6	10	5866.62, 6371.91	5865.88	5.84	8.16
Unknown176	A7, A8	10	1316.89, 1462.69	1136.41	7.42	1.40
Unknown177	A9, A10	10	1254.68, 1072.73	910.32	11.06	1.13
Unknown178	B1, B2	10	534.55, 536.4	282.09	0.24	0.50
Unknown179	B3, B4	10	4627.26, 4824.23	4472.36	2.95	6.16
Unknown180	B5, B6	10	1397.62, 1447.13	1168.99	2.46	1.44
Unknown181	B7, B8	10	338.6, 377.64	104.735	7.71	0.33
Unknown182	B9, B10	10	945.27, 1149.36	793.93	13.78	1.00
Unknown183	C1, C2	10	181.79, 151.99	-86.495	12.63	0.08
Unknown184	C3, C4	10	433.18, 475.78	201.095	6.63	0.43
Unknown185	C5, C6	10	1430.74, 1622.54	1273.26	8.88	1.58
Unknown186	C7, C8	10	518.54, 528.36	270.065	1.33	0.49
Unknown187	C9, C10	10	852.64, 842.8	594.335	0.82	0.80
Unknown188	D1, D2	10	1364.93, 1042.9	950.53	18.91	1.18
Unknown189	D3, D4	10	373.82, 126.11	-3.42	70.07	0.22

x < 0,10

Figure .12.Resultats du dosage du TSH par IRMA n°4

3. Discussions des résultats :

Le dosage du TSH des 100 patients dans le service de médecine nucléaire à C.H.U.T à donné :

Une courbe d'étalonnage est ascendante passent par la majorité des points qui correspond aux cpm des standards (C₀, C₁, C₂, C₃, C₄, C₅, C₆).

La lecture des 2 sérums de contrôle est dans l'intervalle :

- Pour le SERUM₁(correspond à UNKOWN 9) = 1.59 μ UI/L *1.36 et 2.04 μ UI/L*
- Pour le SERUM₂(correspond à UNKOWN 57) = 15.25 μ UI/L *11.7 et 17.5 μ UI/L*

4. La limitation de la méthode :

Les résultats doivent être interprétés à la lumière du dossier clinique complet du patient, incluant l'historique clinique et les données des testes additionnels et toute autre information appropriée.

Pour les testes employant des anticorps, ils existent la possibilité d'une interférence par des anticorps hétérophiles présents dans l'échantillon du patient. Les patients qui ont été régulièrement exposés à des animaux ou qui ont reçu une immunothérapie ou qui ont subi des procédures diagnostiques utilisant des immunoglobulines ou des fragments d'immunoglobulines peuvent produire des anticorps, par exemple des anticorps HAMA (anticorps humains anti-souris), qui interfèrent avec les tests immunologiques.

Ces anticorps qui interfèrent peuvent être les causes de résultats erronés. Evaluer avec précaution les résultats de patients suspectés de posséder ces anticorps.

Conclusion

Les techniques de dosage radio-immunologiques permettent de quantifier les polypeptides nécessaires au diagnostic en médecine avec précision et fiabilité.

Ces méthodes n'imposent pas des conditions particulières à la réalisation du protocole telles que la température, le pH...

Les compteurs Gamma et Beta (WIZARD 2470 automatic gamma counter utilisé au service de médecine nucléaire CHU Tlemcen) grâce à leur détection précise des signaux radio-actifs contribuent à l'obtention de résultats plus exacts et justes.

Le personnel qualifié (médecins, pharmaciens, biologistes..) à cette opération est aussi un facteur important dans la crédibilité des résultats.

Mais l'exposition chronique aux agents radio-actifs des traceurs utilisés constitue un risque non négligeable de différents cancers et stérilités.

La réglementation algérienne a souligné dans des textes législatifs les bonnes pratiques de l'usage des produits radio-actifs (l'apport de blouses blindée, badges, visites périodiques...)⁽²²⁾

Résumé

Il s'agit d'un contrôle de qualité du dosage radioimmunologique effectué par le service de médecine nucléaire CHU Tlemcen.

Notre mémoire a pour but de présenter les notions fondamentales

Illustrer dans la partie théorique de cette mémoire nécessaire à cette technique ainsi qu'un exemple d'un résultat d'analyse obtenue après lecture au compteur Gama.

Bibliographie

1. Radio Immuno Assay (RIA).htm
2. Mémoires Online - Dosage radio-immunologique - Mehdi attia.htm
3. M Wilchek, EA Boyer (1988) the avidin-biotin complex: bioanalytical applications Anal. Biochem. 171(1):1-32.htm
4. Dr louis Sibille. Service de médecine nucléaire.CHRU Mont pelier.htm.
5. Vocabulaire international des termes fondamentaux et généraux en métrologie. FX 07-001.AFNOR.1995
6. *P Kamoun (1987) Appareils et méthodes en biochimie, Flammarion, Médecine-Sciences, Paris, p. 238-45..htm
 - a. **WD Kuhlman (1984) Immunoenzyme techniques in cytochemistry, VerlagChemie, Wheinheim (RFA).htm
7. DT Plummer (1987) An introduction to practical biochemistry (3^{ème} edition), McGraw Hill Book Co., London.htm
8. P Tijssen (1985) Practice and theory of enzyme immunoassay, Elsevier, Amsterdam. [Discussion extensive des enzymes employees: 173-217, des méthodes de conjugaison: 221-77; applications à la cytoimmunochimie, etc.].htm
9. M Wilchek, EA Boyer (1988) the avidin-biotin complex: bioanalytical applications Anal. Biochem. 171(1):1-32.htm
10. Université Mohammed V-Agdal : Faculté des Sciences – Rabat. DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE .Laboratoire de Biochimie-Immunologie. TECHNIQUES IMMUNOLOGIQUES. PR : BELLAOUI Hicham.htm
11. Dosage radio immunologique des hormones en vue des essais cliniques d'agents de régulation de la fécondité dans les pays en voie de développement.htm
12. TECHNIQUES IMMUNOLOGIQUES.htm
13. La technique ELISA - biotechnologie.htm
14. dosagenzym.htm
15. TECHNIQUES IMMUNOLOGIQUES.htm
16. IMGT Web resources IMGT Education.htm
17. TEST%20ELISA/M%C3%A9thode%20immuno-enzymatique%20ELISA%20-%20Wikip%C3%A9dia.htm/
18. TEST%20ELISA/M%C3%A9thode%20immuno-enzymatique%20ELISA%20-%20Wikip%C3%A9dia.htm/
19. ARIVARIAN S.Etude statistique des dépendances. Édition de MOSCOU.2000.
20. COMMISSARIAT A L'ENERGIE ATOMIQUE. Statistique appliqué à l'exposition des mesures. Tome 1 et 2.Edition Masson .1990.
21. P Kamoun (1987) Appareils et méthodes en biochimie, Flammarion, Médecine-Sciences, Paris, p. 238-45..htm
22. DT Plummer (1987) An introduction to practical biochemistry (3^{ème} edition), McGraw Hill Book Co., London.htm