



Université Claude Bernard Lyon 1



Hôpitaux de Lyon

Rapport de Mission d'enseignement de Biologie Clinique

Professeur Christian COLLOMBEL
Professeur Jean-Pierre YVERT
Monsieur Ali SADJAD
Mademoiselle Homaira NAWABI

HOPITAL UNIVERSITAIRE « NEW ALI ABAD »
INSTITUT NATIONAL DES LABORATOIRES MEDICAUX
FACULTE DE PHARMACIE DE KABOUL

du 3 au 17 juillet 2004



Avec le soutien de l'Ambassade de France en Afghanistan

OBJECTIFS DE LA MISSION

Notre mission avait à l'origine deux objectifs distincts :

1 - Assurer un enseignement de formation continue en biologie clinique destiné :

- d'une part aux **biologistes** (médecins et pharmaciens) et aux **techniciens** de laboratoire sur le thème de **l'assurance de qualité** couvrant les 3 phases de l'analyse : préanalytique (prélèvement), analytique (dosage) et post analytique (rendu du résultat) ;
- d'autre part aux **cliniciens hospitaliers** sur la thème de la **bonne prescription des examens de laboratoire** et sur le nécessaire **dialogue clinicien / biologiste**.

2 - Participer à l'installation des équipements du laboratoire de chimie analytique appliquée au contrôle des médicaments de la **Faculté de Pharmacie**

FORMATION CONTINUE EN BIOLOGIE CLINIQUE A L'INTENTION DES BIOLOGISTES ET DES TECHNICIENS DE LABORATOIRE

Christian COLLOMBEL, Jean-Pierre YVERT, Homaira NAWABI

La nécessité de cet enseignement avait été identifiée par **François Xavier BABIN**, interne en pharmacie des Hôpitaux de Lyon, au cours du semestre qu'il a effectué à Kaboul dans le cadre de l'O.N.G. « **Aide Médicale Internationale** », de novembre 2003 à avril 2004, et confirmée par **Mathias ALTMANN**, interne en pharmacie des Hôpitaux de Marseille qui lui a succédé depuis mai 2004.

■

Lundi 5 juillet 2004 à 8 h 15, c'est à dire le lendemain de notre arrivée à Kaboul, nous participons à une réunion organisée à l'**Institut National de Biologie Médicale** qui joue le rôle de laboratoire central pour les Hôpitaux de Kaboul (laboratoire de référence ?) placé sous la direction du **Docteur SCHARFI**.

Cette réunion, qui a pour but de présenter l'auditoire et de préciser le programme d'enseignement, est animée par :

- le **Docteur AZZIZ**, Directeur Général du département de médecine curative au Ministère de la Santé
- le **Docteur RAHMANI**, Vice-Président du département de médecine curative au Ministère de la Santé
- le **Docteur TEMOURI**, Conseiller au Ministère de la Santé pour la transfusion sanguine et la biologie clinique
- le **Docteur SCHARFI**, Directeur de l'Institut National de biologie médicale
- M. **Mathias ALTMANN**, interne en pharmacie dépendant de l'O.N.G. « Aide Médicale Internationale »

* * *

Afin de mieux comprendre le rôle de notre enseignement, nous avons visité 3 laboratoires soutenus par l'ONG « Aide Médicale Internationale » (A.M.I.), en compagnie de M. WARDAK, « technicien supervisor » de A.M.I. et de M. Mathias ALTMANN, interne en pharmacie :

- l'institut National des Laboratoires Médicaux
- le laboratoire de l'hôpital universitaire Ali Abad
- le laboratoire de l'hôpital Maïwand

Le tableau ci-après rappelle le devoir et les obligations de chacun

en sachant que l'effort principal doit concerné, soit la construction d'un incinérateur dans chaque hôpital, soit l'organisation d'un système de ramassage quotidien des déchets biologiques pour les acheminer dans un incinérateur central
(par exemple celui de l'Institut National des Laboratoires Médicaux)

	Devoirs de la Direction d'un laboratoire	Obligation du personnel Techniciens et Biologistes
Vaccinations	<ul style="list-style-type: none"> •Mettre à disposition les vaccins pour : - hépatite B - tuberculose - diphtérie - tétanos - poliomyélite - typhoïde 	<ul style="list-style-type: none"> - Accepter la vaccination - Sinon, faire vérifier le taux d'anticorps contre le virus de l'hépatite B
	<ul style="list-style-type: none"> •Mettre à disposition : 	<ul style="list-style-type: none"> - Manipuler en blouse couvrant

Tenue vestimentaire	<ul style="list-style-type: none"> - deux blouses en coton par semaine - éventuellement un pantalon de coton blanc 	<p>tous les vêtements (sinon, mettre un pantalon de coton blanc)</p> <ul style="list-style-type: none"> - Quitter la blouse avant de sortir du laboratoire - Se laver les mains avant de sortir du laboratoire
	<ul style="list-style-type: none"> - Mettre à disposition des gants à usage unique en quantité suffisante (3 à 4 paires par jour) 	<ul style="list-style-type: none"> - Manipuler avec des gants à usage unique qui, une fois souillés sont jetés dans le sac destiné à être incinéré - Oter les gants avant les manipulations propres (observation au microscope, recopiage des résultats...)
	<ul style="list-style-type: none"> - Installer un vestiaire pour les hommes et les femmes avec si possible des douches et surtout des toilettes correctes 	<p>Laisser au vestiaire les objets personnels (sacs, bijoux, manteaux...)</p>
Alimentation	<ul style="list-style-type: none"> - Installer un réfectoire avec un réfrigérateur destiné à la conservation des aliments 	<ul style="list-style-type: none"> - Ne pas boire, ni manger, ni fumer au sein du laboratoire (→ réfectoire) - Ne pas entreposer d'aliments dans le réfrigérateur contenant des réactifs ou des prélèvements biologiques
Prélèvements des échantillons biologiques	<ul style="list-style-type: none"> •Mettre à disposition des préleveurs : - seringues et aiguilles à usage unique - vaccinostyle à usage unique - poudriers à usage unique - tubes à usage unique 	<ul style="list-style-type: none"> - Ne pas recapuchonner ni désadapter à la main les aiguilles à prélèvement des seringues - Jeter aiguilles, seringues, vaccins, tampons de coton, gants à usage unique, pansements, dans des sacs étanches qui seront incinérés
Déchets biologiques <ul style="list-style-type: none"> - sang - selles - crachats - LCR - etc 		<ul style="list-style-type: none"> - Verser du Phénol dans les poudriers et récipients divers contenant des selles, crachats, liquides biologiques divers - Rassembler ensuite ces récipients ainsi que les tubes de sang et milieux de cultureensemencés dans des sacs étanches qui seront incinérés

Réalisation des examens biologiques	<ul style="list-style-type: none"> •Mettre à disposition des techniciens et biologistes : - des antiseptiques - des pipettes automatiques ou des propipettes - le plus possible de matériel à usage unique (Ex : tubes à hémolyse) 	<ul style="list-style-type: none"> - Nettoyer quotidiennement les plans de travail - Nettoyer une fois par semaine les réfrigérateurs - Ne pas pipeter à la bouche : utiliser des propipettes et mieux encore, des pipettes automatiques - Evacuer les déchets et le matériel à usage unique à l'incinérateur
-------------------------------------	--	---

BILAN DE LA MISSION CONCERNANT LA BIOLOGIE CLINIQUE

Le Dr TEMOURI organise le 15 juillet à 15 h une réunion au Ministère de la Santé, sous la présidence du Dr Shah SHOKOHMAND, directeur de la Santé Publique représentant le Ministre de la Santé, afin de faire le bilan de notre mission.

Participants : Dr TEMOURI, Dr SCHARIFI, Pr C. COLLOMBEL, Pr J.P. YVERT, Mathias ALTMANN, Homaira NAWABI

Le Dr SHOKOHMAND nous demandant de tirer les conclusions de notre mission, sous forme de propositions constructives, nous rappelons :

1 – La nécessité de mettre en place le contrôle de qualité interne et externe des examens de laboratoire, en s'appuyant sur le projet de loi sur la biologie clinique.

pour ce faire, il apparaît indispensable de mettre en place des **sessions pratiques** de formation, ce qui correspond à une demande des techniciens et des biologistes.

Nous indiquons que nous sommes prêts à assurer ce type de formation.

2 – L'impérieuse nécessité d'augmenter le niveau des précautions prises pour assurer la sécurité biologique au sein des laboratoires et vis à vis de la population en général :

- construction d'incinérateurs pour les déchets biologiques hospitaliers
- vaccination du personnel des laboratoires
- mise à disposition du personnel de réfectoires pour éviter qu'il déjeune sur les paillasses au milieu des prélèvements.

3 – Le rôle que devrait jouer un biologiste chef de service dans chaque laboratoire pour assurer la validation technique et biologique des résultats d'examen.

Le Dr SHOKOHMAND prend note de ces recommandations, en particulier concernant les incinérateurs, et nous demande de continuer à oeuvrer pour moderniser la biologie clinique afghane :

- en participant à la mise en place de la loi sur la biologie
- en maintenant la présence d'un interne en pharmacie pour le secteur de la biologie clinique
- en participant à la mise en place du futur laboratoire central dans le bâtiment du centre de transfusion
- en intéressant les industriels du secteur des bioréactifs à la biologie afghane (BIOMERIEUX par exemple)
- en continuant à participer à la formation des techniciens et biologistes afghans.

Nous répondons que nous sommes prêts à assurer ces missions si la cellule Santé de l'ambassade de France nous le demande.

<p>INSTALLATION DU PLATEAU TECHNIQUE DE CHIMIE ANALYTIQUE APPLIQUEE AU CONTROLE DES MEDICAMENTS DE LA FACULTE DE PHARMACIE</p>
--

Professeur Christian COLLOMBEL
Professeur Jean-Pierre YVERT
Monsieur Ali SADJAD

Les équipements donnés par la France doivent équiper un plateau technique à la disposition de tous les enseignants de la Faculté

CONCLUSION

Cette mission s'inscrit dans le cadre de l'accord de coopération signé le 2 février 2003 entre la Faculté de Pharmacie de Lyon, la Faculté de Pharmacie de Kaboul et les Hospices Civils de Lyon.

Les objectifs fixés n'ont été que partiellement atteints en raison des difficultés matérielles rencontrées dans l'installation du plateau technique de chimie analytique appliquée au contrôle des médicaments.

Nous aurions également souhaité au cours de cette mission, aborder avec le Doyen BABURY :

- le projet de création de la société afghane de biologie clinique

- et celui concernant l'édition d'un bulletin de liaison et d'information des pharmaciens afghans dont nous parlons depuis bientôt deux ans ! et pour lequel nous avons mobilisé des donateurs... Ce sera pour l'année prochaine nous a t'il dit !

* * *

Nous remercions tous les membres de la Cellule santé de l'ambassade de France dont nous apprécions le soutien efficace et l'accueil cordial. Ils contribuent chacun à leur place, à faciliter notre séjour à Kaboul et à aplanir les difficultés rencontrées au cours de notre mission.

Et bravo pour la guest house Ali ABAD, ses chauffeurs et ses cuisiniers.

**Rapport de mission validé le 14 août 2004
par l'Ambassade de France à Kaboul**

- Les constats et propositions appartiennent à l'auteur -

Résumé de l'enseignement donné aux personnels des établissements de santé

mardi 06 juillet 2004

Institut National des Laboratoires Médicaux

KABOUL

RAPPELS DES BASES PHYSICO-CHIMIQUES

UTILES EN BIOLOGIE MEDICAL

Pr. Jean-Pierre Yvert

1) DEFINITIONS

Atome, poids atomique
molécule
Nombre d'Avogadro
Molécule, Molécule gramme

A) MOLARITE, NORMALITE D'UNE SOLUTION

Définition de la Molarité

La molarité d'une solution pour une substance donnée est égale au nombre de molécule gramme de cette substance contenue dans un litre de solution.

Exemples :

HCL, NaCL, H₂SO₄, H₃ PO₄

H=1 ; Cl= 35,5 HCl=36,5

PM HCL=36,5 g/mole

Une solution molaire d' HCl contient une mole d'HCl par litre donc, si une mole d'HCl pèse 36,5 g, une solution molaire contient 36,5 g/litre d'HCl.

Na=23 ; Cl=35,5

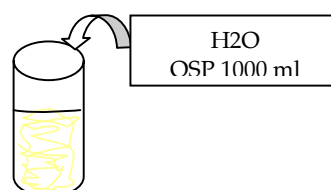
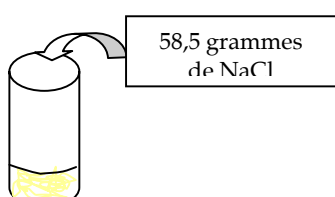
PM NaCl=58,5 g/mole.

Une solution molaire de NaCl contient une mole de NaCl par litre donc, si une mole de NaCl pèse 58,5 g, une solution molaire de NaCl contient 58,5 g/litre de NaCl.

Préparation des solutions molaires

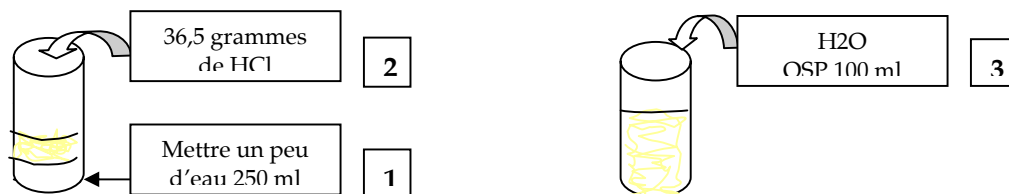
Exemple : NaCl

Une solution molaire de NaCl contient une mole de NaCl par litre donc, si une mole de NaCl pèse 58,5 g, une solution molaire contient 58,5 g/litre de NaCl.



Exemple : HCl

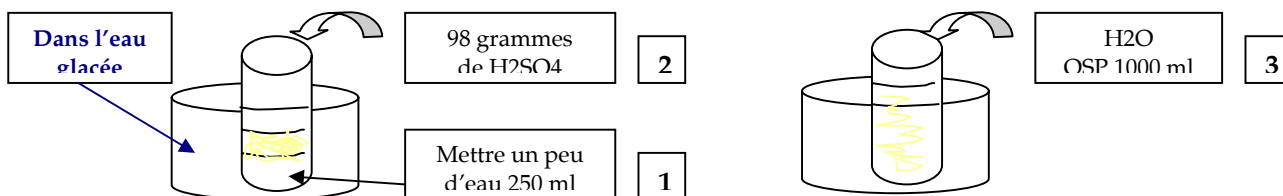
Une solution molaire d' HCl contient une mole d' HCl par litre donc, si une mole d' HCl pèse 36,5 g, une solution molaire d' HCl contient 36,5 g/litre d' HCl.



Exemple : H2SO4

H=1 ; S=32 ; O=16

Une solution molaire d' H2SO4 contient une mole d' H2SO4 par litre donc, si une mole d' H2SO4 pèse 98 g, une solution molaire d' H2SO4 contient 98 g/litre d' H2SO4.



Définition de la Normalité

Dans l'eau les acides se dissocient pour donner :

- des ions positifs appelés cations. Ce sont des ions H⁺ (encore appelés protons). Ils sont responsables de l'acidité de la solution.
- des ions négatifs appelés anions. Ils correspondent au reste de la molécule.

Exemples

HCL

HCL 1 molécule gramme (36,5 grammes)	donne	1 ion gramme H ⁺ 1 ion gramme Cl ⁻	soit 1 gramme soit 35,5 grammes
--	-------	---	------------------------------------

H2SO4

H2SO4 1 molécule gramme 98 grammes	donne	2 ions gramme H ⁺ 1 ion gramme SO ₄ ^{- -}	soit 1x2 grammes soit 96 grammes
--	-------	---	-------------------------------------

--	--	--	--

H₃PO₄

H ₃ PO ₄ 1 molécule gramme 97 grammes	donne	3 ions gramme H ⁺ 1 ion gramme PO ₄ ^{- -}	soit 1x3 grammes soit 94 grammes
---	-------	---	-------------------------------------

NaOH

NaOH 1 molécule gramme 40 grammes	donne	1 ion gramme OH ⁻ 1 ion gramme Na ⁺	soit 17 grammes soit 23 grammes
---	-------	--	------------------------------------

Une solution est dite normale (1N) lorsqu'elle contient un ion gramme (H⁺) ou un ion gramme hydroxyde (OH⁻) par litre de solution.

Donc :

Une solution normale (1N) d' HCl contient un ion gramme H⁺ par litre. Comme un ion gramme H⁺ est donné par une molécule gramme d' HCl, une solution normale (1N) d' HCl contient une mole gramme d' HCl soit 36,5 g/litre d' HCl.

Une solution molaire de NaOH contient un ion gramme OH⁻ par litre. Comme un ion gramme OH⁻ est donné par une molécule gramme de NaOH, une solution normale (1N) de NaOH contient une mole gramme de NaOH soit 40 g/litre de NaOH.

Attention

Une molécule d'acide sulfurique H₂SO₄ libère 2 ions grammes H⁺. C'est un di-acide.

Dans ce cas :

Une solution normale (1N) d' H₂SO₄ **contient toujours un ion gramme H⁺ par litre**, mais comme la molécule gramme d' H₂SO₄ libère 2 ions grammes H⁺ par litre, il suffit de seulement d'une ½ molécule gramme d' H₂SO₄ pour obtenir 1 ion gramme H⁺ par litre.

Donc une solution normale (1N) d' H₂SO₄ contient 1/2 mole gramme d' H₂SO₄ soit 98/2=49 g/litre d' H₂SO₄.

Une molécule d'acide phosphorique H₃PO₄ libère 3 ions grammes H⁺. C'est un tri-acide.

Dans ce cas :

Une solution normale (1N) d' H₃PO₄ **contient toujours un ion gramme H⁺ par litre**, mais comme la molécule gramme d' H₃PO₄ libère 3 ions grammes H⁺ par litre, il suffit de seulement de 1/3 molécule gramme H₃PO₄ pour obtenir 1 ion gramme H⁺ par litre.

Donc une solution normale (1N) d' H₃PO₄ contient 1/3 mole gramme d' H₃PO₄ soit 97/3= 32,33 g/litre d' H₃PO₄.

Il existe ainsi une relation entre molarité et normalité qui est fonction de la nature de l'acide ou de la base

Acide ou Base	Molarité	Normalité
---------------	----------	-----------

HCl	1M = 36,5g/l	1N = 36,5g/l
NaOH	1M = 40g/l	1N = 40g/l
H ₂ SO ₄	1M = 98 g/l	1N = 98/2 = M/2
H ₃ PO ₄	1M = 97 g/l	1N = 97/3 = M/3

B) TRITRAGE DES SOLUTIONS

Les solutions titrées préparées manuellement dans les laboratoires à partir des réactifs en vrac (poudre, liquides...) ne conduisent pratiquement jamais à des solutions dont les concentrations sont parfaitement connues.

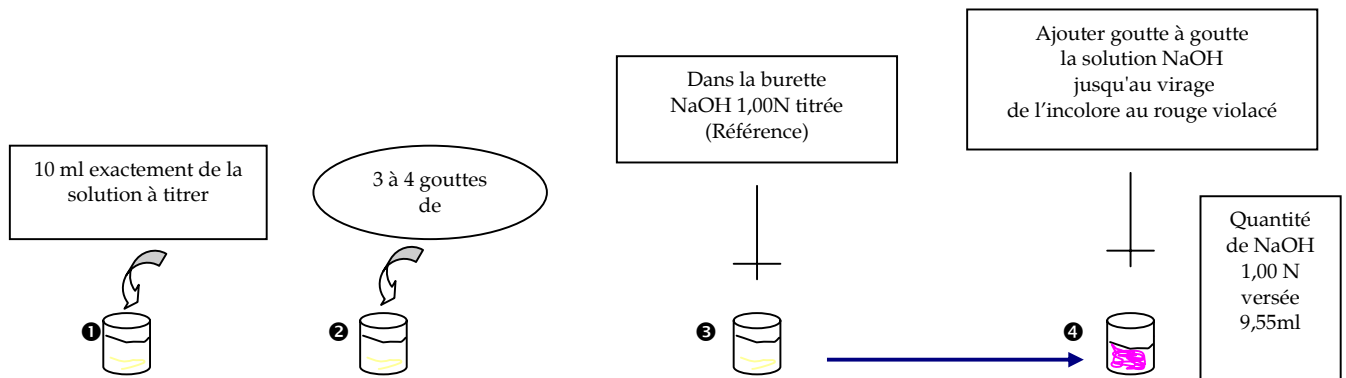
Cela est dû à différentes causes :

- la présence d'impuretés dans les réactifs. La pureté d'un réactif n'est pas de 100%.
- la présence d'eau (humidité ou eau de constitution) dans le produit dont il est très difficile de connaître le pourcentage exacte car cela dépend des conditions de conservation (chaleur, humidité...).

Il est donc indispensable de comparer la solution préparée au laboratoire (donc imprécise) à une solution de référence du commerce dont la concentration est parfaitement connue (grande précision) et certifiée par le fabricant (exemple Titrisol Merck).

Modalités de titration et calcul des titres

Exemple tirage d'une solution HCl environ 1 N préparée au laboratoire par dissolution d' HCl (environ 36,5 g/l) par une solution NaOH 1N titrée du commerce (exemple Titrisol).



Lorsque la couleur change de l'incolore au rouge violacé on dit que l'on est au « point d'équivalence » ce qui correspond dans notre exemple à pH = 7,00.

Il a fallu 9,55 ml de NaOH 1,00 N pour neutraliser 10 ml de notre solution.

Calcul des titres

On utilise la formule

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

NaOH 1,00N

HCl environ 1N

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

$$1,00 \times 9,55 = N_2 \times 10,0$$

$$N_2 = \frac{1 \times 9,55}{10,0}$$

$$10,0$$

$$N_2 = 0,955N$$

Exercice

On titre une solution de NaOH inconnue par une solution 3 M (3,0 fois molaire) d'H₂SO₄.
 Pour neutraliser 20 ml de solution de NaOH inconnue, on utilise 11,80 ml de solution H₂SO₄ exactement
 3,00 M.

Quel est le titre de la solution de NaOH ?

$$N_1V_1=N_2V_2 \quad 20N_1 = 11,80 \times 6 \quad N_1=11,80 \times 6 / 20 \quad N_1=3,54 \text{ N}$$

C) EQUIVALENT ET MILLIEQUIVALENT

Notion d'équivalence

Dans le corps humain existent de nombreuses substances minérales ou organiques.
 La plupart des substances minérales sont dissoutes dans l'eau de l'organisme et existent non plus à l'état de molécule entière mais à l'état d'ion. Cela est la conséquence d'un phénomène chimique appelé **dissociation**.

Lors de cette dissociation la molécule donne naissance à **1 ou plusieurs ions chargés positivement** appelés CATIONS et à **1 ou plusieurs ions chargés négativement** appelés ANIONS

Exemples :

Molécules	Ions	Molécules	Ions
NaCl	$\text{NaCl} \begin{cases} \rightarrow \text{Na}^+ \\ \rightarrow \text{Cl}^- \end{cases}$	HCl	$\text{HCl} \begin{cases} \rightarrow \text{H}^+ \\ \rightarrow \text{Cl}^- \end{cases}$
CaCl ₂	$\text{CaCl}_2 \begin{cases} \rightarrow \text{Ca}^{++} \\ \rightarrow 2 \text{Cl}^- \end{cases}$	H ₂ SO ₄	$\text{H}_2\text{SO}_4 \begin{cases} \rightarrow 2 \text{H}^+ \\ \rightarrow \text{SO}_4^{--} \end{cases}$

Tous les ions positifs ou cations ont un caractère acide, et tous les ions négatifs ou anions ont un caractère basique.

Chez l'individu en bonne santé, tous les ions acides et tous les ions basiques forment un équilibre conduisant à un pH du sang voisin de 7,40.

Cations	Anions
H ⁺	OH ⁻
Na ⁺	Cl ⁻
K ⁺	SO ₄ ⁻⁻
Ca ⁺⁺	PO ₄ ⁻⁻⁻
NH ₄ ⁺	HCO ₃ ⁻
Mg ⁺⁺	NO ₃ ⁻
.....

pH = 7,40

Dans certaines affections, les cations deviennent plus nombreux que les anions. Comme ce sont des acides, le pH du sang, baisse (7,30...7,25...). On dit alors que le patient est en **ACIDOSE**.

Dans certaines affections, les anions deviennent plus nombreux que les cations. Comme ce sont des bases, le pH du sang, s'élève (7,50...7,55..). On dit alors que le patient est en **ALCALOSE**.

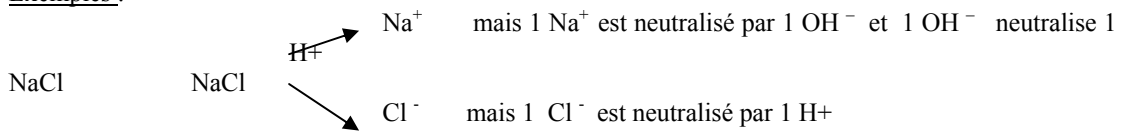
Les états d'acidose ou d'alcalose sont graves pour les malades, il faut les corriger le plus rapidement et le plus précisément possible.

Pour cela le médecin a besoin de connaître chez le malade le nombre de charges positives et le nombre de charges négatives présentes dans le sang du malade.

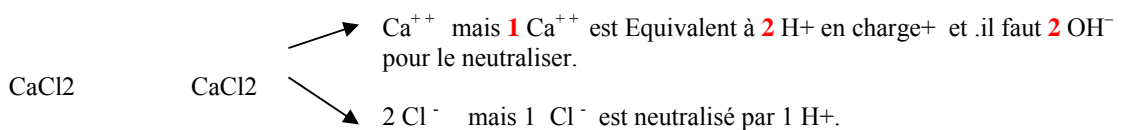
Pour cela :

- on mesure pour chaque cation important son caractère acide en l'exprimant en **EQUIVALENT** H⁺ libéré,
- on mesure pour chaque anion important son caractère basique en l'exprimant en **EQUIVALENT** H⁺ neutralisé par OH⁻

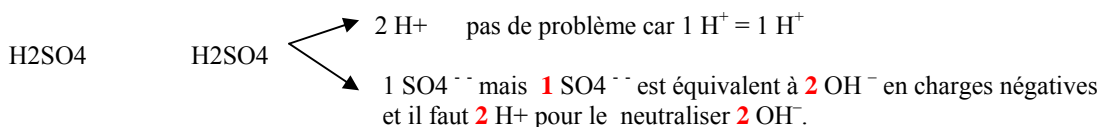
Exemples :



donc si l'on ne regarde que les charges + on peut dire que 1 Na⁺ est équivalent à 1 H⁺ en charge+ car ils ont tous les deux 1 charge positive (+).



donc si l'on ne regarde que les charges + on peut dire que 1 Ca⁺⁺ est équivalent à 2 H⁺ en charge+ car il faut les 2 charges + des 2 H⁺ pour égaler les 2 charge + de Ca⁺⁺.



donc si l'on ne regarde que les charges + on peut dire que 1 SO₄⁻ est équivalent à 2 H⁺ car 1 SO₄⁻ est équivalent à 2 OH⁻ et 2 OH⁻ sont équivalents à 2 H⁺.

En tenant compte du poids atomique (PA) des différents ions on peut dire que :

- un ion potassium K⁺ de PA = 39 donne le même nombre de charges positives que 1 ion H⁺ dont le PA est 1 ou encore que 1 ion Na⁺ dont le PA est 23.
- un ion nitrate NO₃⁻ de PA = 62 donne le même nombre de charges négatives que 1 ion OH⁻ de PA 17 ou encore que 1 ion HCO₃⁻ dont le PA est 13 et que chacun de ces ions neutralise 1 ion H⁺. dont le PA est 1.
- que pour neutraliser les deux charges + d'un ion calcium de PA 40, il faut 2 ions OH⁻ de PA 17 ou 1 ion sulfate SO₄⁻ de PA 96 ou encore 2 ions nitrate de PA 62.

On peut donc dire que **chaque ion** est caractérisé par son **poids atomique (PA)** et par son **nombre de charges** positives ou négatives que l'on appelle VALENCE.

Définition de la valence d'un élément

La valence d'un élément est égale au nombre de charges positives ou négatives qu'il présente dans un état donné (par exemple sous forme d'ion).

Mais attention :

Une molécule n'est pas chargée, sa valence est toujours égale à Zéro.

En conclusion

Equivalence (Eq), poids atomique et valence sont reliés par une équation simple :

$$\text{EQUIVALENT} = \text{Eq} = \frac{\text{Poids atomique (en grammes)}}{\text{Valence}}$$

Dans le sang les concentrations en ions (anions ou cations) sont faibles. Les équivalents sont des grandeurs trop grandes. On utilise un sous multiple 1000 fois plus petit le MILLIEQUIVALENT noté mEq.

$$\text{MILLIEQUIVALENT} = \frac{\text{Poids atomique (en milligrammes)}}{\text{Valence}}$$

Tableau récapitulatif

Cations ou Anions	Poids Atomiques (PA)	Valence	Equivalent En grammes	Milliéquivalent En milligrammes
H+	1	1	1	1
Na+	23	1	23	23
K+	39	1	39	39
Ca+ +	40	2	20	20
NH4+	18	1	18	18
Mg+ +	24	2	12	12

OH ⁻	17	1	17	17
Cl ⁻	35,5	1	35,5	35,5

SO ₄ ²⁻	96	2	48	48
PO ₄ ³⁻	95	3	31,67	31,67
HCO ₃ ⁻	13	1	13	13
NO ₃ ⁻	62	1	62	62

Application en biochimie

La concentration du calcium dans le sang est en moyenne de 100 mg/litre de sang ce qui correspond à 5 mEq .
le mEq de calcium pesant 20 mg, il y a $100/20=5$ mEq

La concentration en chlorures dans le sang est en moyenne de 102 mEq/litre de sang ce qui correspond à 3621mg de Cl soit 3,621 g/litre.
Un mEq de chlorures pèsent 35,5 mg, 102 mEq pèsent $102 \times 35,5 = 3621 \text{mg/l} = 3,621 \text{ g/l}$.

L'intérêt de ce mode de calcul est très grand pour les réanimateurs dont le souci est maintenir le pH du sang le plus près possible de à 7,40.

Pour cela ils expriment les anions et les cations en mEq

Cations	Anions
Na ⁺ en mEq/l	Cl ⁻ en mEq/l
K ⁺ en mEq/l	SO ₄ ²⁻ en mEq/l
Ca ⁺⁺ en mEq/l	PO ₄ ³⁻ en mEq/l
Mg ⁺⁺ en mEq/l	HCO ₃ ⁻ en mEq/l
.....
Total de la colonne = X mEq/l	Total de la colonne = Y mEq/l

pH = 7,40

Pour que le malade soit équilibré il faut que les totaux de chaque colonne (X pour les cations et Y pour les anions) soient le plus proches de 155. +/-5.

En cas d'acidose il y a trop de cations ou pas suffisamment d'anions. Pour corriger on donnera au malade des anions ou on lui enlèvera des cations tout en restant le plus près possible de 155 mEq.

En cas d'alcalose il y a trop d'anions ou pas suffisamment de cations. Pour corriger on donnera au malade des cations ou on lui enlèvera des anions tout en restant le plus près possible de 155 mEq.

* * *

Résumé de l'enseignement donné aux personnels des établissements de santé

mercredi 07, jeudi 08 et dimanche 11 juillet 2004

Institut Nationale des Laboratoires Médicaux

KABOUL

RAPPELS DES BASES PHYSICO-CHIMIQUES EN BIOLOGIE

NOTIONS DE STATISTIQUES

VALIDATION DE TECHNIQUES

Pr. Jean-Pierre Yvert

1) DILUTION DES SOLUTIONS

Deux méthodes simples peuvent être utilisées pour diluer une solution donnée :

- dilution directe,
- dilution en cascade ou dilution successive:

Les dilutions directes sont des solutions réalisées en diluant **à chaque fois** directement la solution mère (= solution stock, standard...). Ces solutions (filles) sont **très précises et indépendantes** les unes des autres de sorte qu'une erreur intervenant sur l'une d'elle n'affecte pas les autres.

Elles sont à préférer lors de la fabrication de solutions étalons.

Les solutions par dilutions successives sont obtenues en diluant de proche en proche la solution immédiatement précédente.

La solution mère n'est utilisée qu'une fois lors de la première dilution.

Lorsqu'elles sont préparées avec beaucoup de soins, ces solutions sont précises mais une erreur intervenant sur une dilution se retrouve ensuite sur toutes les dilutions qui suivent.

Ces dilutions s'utilisent principalement en sérologie lors de la recherche du titre d'un anticorps par exemple.

Le facteur de dilution est exprimé par une fraction du type 1/X.

Une dilution au 1/10^e veut dire que dans la solution diluée, le produit initial représente **1** partie sur un total de **X** parties.

Ainsi :

dans une dilution au 1/10^e le produit initial représente **1** partie sur un total de **10** parties.

dans une dilution au 1/25^e le produit initial représente **1** partie sur un total de **25** parties.

dans une dilution au 1/128^e le produit initial représente **1** partie sur un total de **128** parties.

Une dilution au 1/2 est aussi appelée dilution au demi.

Une dilution au 1/3 est aussi appelée dilution au tiers

Une dilution au 1/4 est aussi appelée dilution au quart

A) Dilution directe

Exemple :

Faire une gamme d'étalonnage de solution de glucose allant de 0,10 en 0,10 g/l entre 0,20 g/l et 1,0 g/l à partir d'une solution mère (= solution stock) contenant exactement 1,0 g/l de glucose.

Matériels nécessaires :

- * Solution mère (par exemple solution étalon, standard...),
- * pipettes de précision sèches et propres de classe A (= double traits) ou de classe B (1ml graduée au 1/100^e) ou encore pipette de précision type SMI, Socorex, Merck, Prolabo...réglable de 0 à 1000 microlitres.

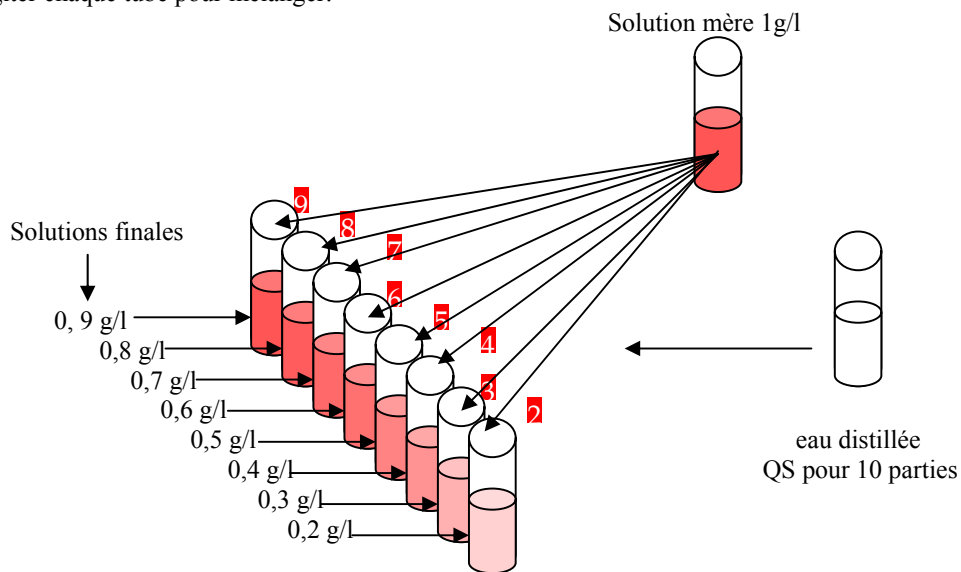
- * Tubes à essais propres et secs.
- * Poire pour aspirer.
- * Parafilm (type 3M) pour agiter les tubes.

Protocole

Dans les tubes à essai, distribuer les solutions de la façon suivante :

	Solution à 1g/l Solution mère	Eau distillée
Solution à 0,9 g/l	9 parties	1 partie
Solution à 0,8 g/l	8	2
Solution à 0,7 g/l	7	3
Solution à 0,61 g/l	6	4
Solution à 0,5 g/l	5	5
Solution à 0,4 g/l	4	6
Solution à 0,3 1g/l	3	7
Solution à 0,2 g/l	2	8

Boucher chaque tube avec un carré de Parafilm.
Agiter chaque tube pour mélanger.



B) Dilutions successives

Exemple :

Faire une série de dilutions successives d'un sérum ou d'un sang afin de déterminer son titre en anticorps anti- toxoplasmose.

Matériels nécessaires :

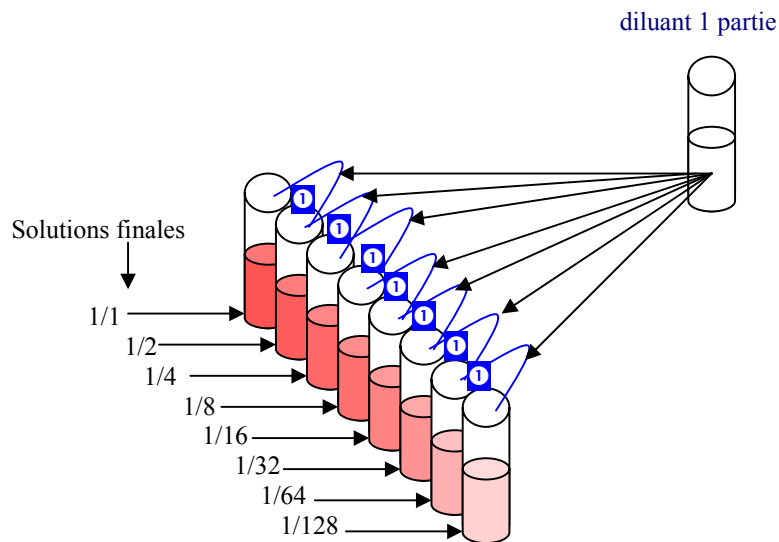
- * pipettes sèches et propres de classe B (1ml graduée au 1/10^e) ou encore pipette de précision type SMI, Socorex, Merck, Prolabo... volume fixe de 200 ou 500 microlitres.
- * Tubes à essais propres et secs.
- * Poire pour aspirer.
- * Parafilm (type 3M).

Protocole

Dans les tubes à essai, distribuer les solutions de la façon suivante

	Dilution 1/2	Dilution 1/4	Dilution 1/8	Dilution 1/16	Dilution 1/32	Dilution 1/64	Dilution 1/128
Diluant	1	1	1	1	1	1	1
Solution initiale	1						
Dilution 1/2		1					
Dilution 1/4			1				
Dilution 1/8				1			
Dilution 1/16					1		
Dilution 1/32						1	
Dilution 1/64							1

Agiter chaque tube pour mélanger



Attention le sang peut être contaminé ou provenir d'un malade contagieux

Toujours manipuler avec des gants.
Toujours utiliser la piroire pour aspirer les liquides

2) NOTIONS DE STATISTIQUES UTILISEES EN BIOLOGIE MEDICALE

A) Objectifs recherchés

Les outils statistiques sont des outils généraux utilisables par les biologistes et les techniciens de laboratoires pour répondre à diverses questions relatives à la qualité et en particulier :

- qualité des réactifs,
 - * contrôle des performances...
 - * suivi de stabilité,
- qualité des résultats,
- qualités des manipulateurs.

Ils peuvent également servir à **comparer les méthodes entre elles** et par conséquent aider les biologistes à sélectionner les meilleures méthodes.

Se sont par ailleurs des outils indispensables à la mise en place et au développement d'un **contrôle de qualité interne** au laboratoire et au **contrôle de qualité externe** au laboratoire.

B) Application au contrôle d'un réactif fabriqué localement

Exemple détermination de la concentration d'une solution de chlorures de calcium correspondant à 100 mg/l de calcium.

Procédure

- ❶ Réalise dans **une série unique 30 fois le dosage** de la solution à étudier. Le chiffre 30 (population) correspond au nombre minimum de dosages qu'il faut avoir pour que les calculs mathématiques donne des résultats significatifs c'est-à-dire surs.
- ❷ Les résultats sont reportés dans un tableau, comme celui –ci, dans la colonne résultats.
- ❸ Calculer la somme des résultats des 30 dosages puis, la moyenne des 30 dosages en divisant le total par 30. Reporter le chiffre trouvé dans la case correspondante du tableau.
- ❹ Calculer la différence entre la moyenne de tous les dosages calculée en ❸ et le résultat de chaque dosage. Reporter le résultat dans la colonne (M-dosage)❹. Ne pas tenir compte des signes – ou + pour la suite des opérations.
- ❺ Calculer le carré de chaque différence et reporter le résultat dans la colonne (M-dosage)².
- ❻ Calculer la somme des 30 résultats (M-dosage)² puis, la moyenne de ces 30 valeurs en divisant le total par 30. Reporter le chiffre trouvé dans la case correspondante du tableau ❻.

- ❼ Calculer la VARIANCE en appliquant la formule

$$\text{Variance} = \frac{(\text{somme des différences})^2}{(\text{nombre de dosages} - 1)} = \frac{21,20}{30-1} = 0,7310$$

- ❽ Calculer l'ECART TYPE (E.T.) en appliquant la formule suivante :

$$\approx \underline{0,86} \quad \text{E.T.} = \sqrt{\frac{(\text{somme des différences})^2}{(\text{nombre de dosages} - 1)}} = \sqrt{\text{Variance}} = \sqrt{0,7310} = 0,855$$

- ❾ Calculer le coefficient de variation de la méthode (CV %) en appliquant la formule suivante :

$$\text{CV \%} = \frac{\text{Ecart type (E.T.)} \text{ ❽}}{\text{Moyenne des dosages} \text{ ❸}} \times 100 = \frac{0,86}{100,40} \times 100 = 0,85 \%$$

- ❿ Interprétation des résultats

Tableau récapitulatif des calculs

N°	Résultats ②	(M-Dosage) ④	(M-Dosage) ² ⑤
1	100	0,40	0,16
2	101	0,60	0,36
3	100	0,40	0,16
4	102	1,60	2,56
5	100	0,40	0,16
6	101	0,60	0,36
7	100	0,40	0,16
8	99	1,40	1,96
9	100	0,40	0,16
10	101	0,60	0,36
11	100	0,40	0,16
12	101	0,60	0,36
13	99	1,40	1,96
14	100	0,40	0,16
15	100	0,40	0,16
16	101	0,60	0,36
17	101	0,60	0,36
18	102	1,60	2,56
19	101	0,60	0,36
20	100	0,40	0,16
21	99	1,40	1,96
22	100	0,40	0,16
23	101	0,60	0,36
24	102	1,60	2,56
25	100	0,40	0,16
26	100	0,40	0,16
27	101	0,60	0,36
28	99	1,40	1,96
29	101	0,60	0,36
30	100	0,40	0,16
Total	3012		⑥ 21,2
Moyenne	③ 100,40	Variance	⑦ 0,7310
		Ecart Type	⑧ 0,86
		Coefficient Variation (C.V %)	⑨ 0,85

Concentration de la solution étudiée

La concentration de la solution étudiée est de 100,40 mg/litre

Coefficient de variation

Le coefficient de variation apprécie la précision de la méthode. Plus il est petit plus la méthode est précise.

L'appréciation des coefficients de variation est variable selon la précision recherchée. En biologie, elle dépend de l'analyse, de la concentration de la substance dans le sang...

En général on admet qu'un CV < à 5 % correspond à une bonne méthode,
qu'un CV < à 3 % correspond à une très bonne méthode,
qu'un CV < à 2 % correspond à une excellente méthode.

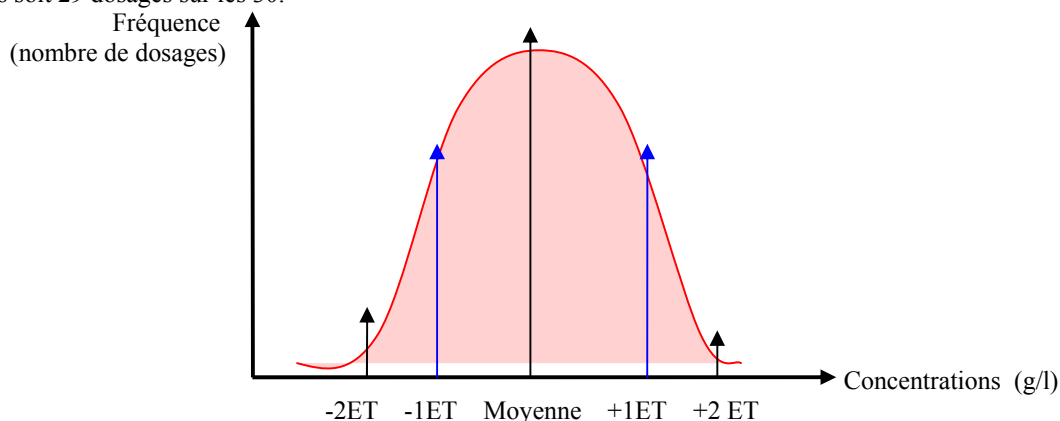
Dans notre exemple, comme il s'agit d'une solution faite au laboratoire et compte tenu de l'importance du calcium dans l'organisme il faut que les CV soit < à 2 %. C'est le cas ici.

Dans ce cas de figure, si le CV avait été plus important il faudrait remettre en cause soit l'appareillage (instabilité du colorimètre ou du spectrophotomètre), le matériel (pipette, cuvette de lecture...) ou un mauvais travail du technicien manipulateur (mauvais pipetage, mauvaise lecture des résultats, erreur de calculs...).

Calculs des bornes d'acceptabilité du réactif étudié

On démontre qu'à partir de 30 dosages la répartition des valeurs de chaque dosage se répartissent symétriquement autour de la moyenne des dosages. On dit que la répartition est Gaussienne.

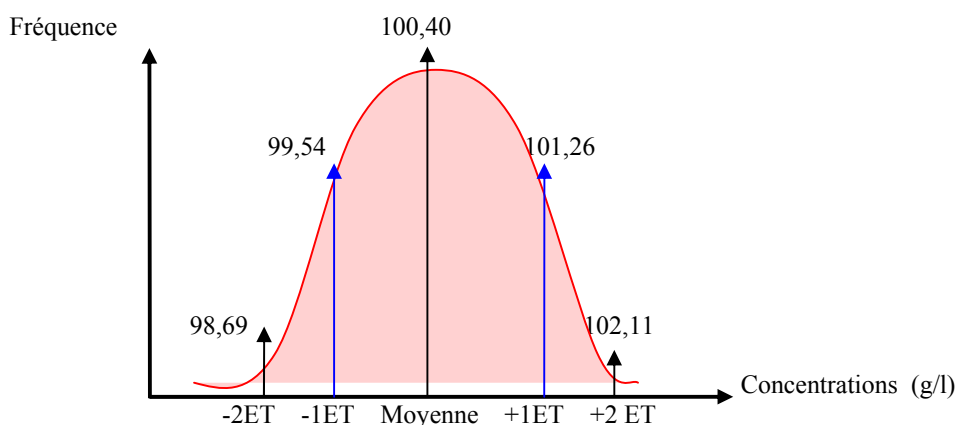
On démontre également que dans la zone définie par la valeur de la moyenne + 2 écart-types et la valeur de la moyenne - 2 écart-types (zone en rouge dans le schéma ci-après), on retrouve environ 96 % des 30 valeurs de dosages soit 29 dosages sur les 30.



En biologie ces limites (moyenne + 2 ET et moyenne - 2 ET) sont considérées par tous les biologistes comme valeurs d'acceptabilité.

Dans notre exemple les **valeurs d'acceptabilité** sont les suivantes

Concentration = $100,40 \text{ mg/l} \pm 2 \times 0,86 = 100,40 \text{ mg/l} \pm 1,72$
 soit toutes les valeurs comprises entre 98,69 mg/l et 102,11 mg/l



Remarques :

Lorsque les réactifs coûtent très chers ou que l'on ne dispose que de petites quantités de produit à étudier, il est possible de ne faire que 20 ou même que 10 dosages. Attention, les résultats trouvés seront alors moins précis qu'avec les 30 dosages recommandés.

Mais quelles que soient les raisons dans ce cas de figure,

Ne jamais faire moins de 10 dosages

C) Application au contrôle des réactifs achetés dans le commerce. Notions de répétabilité et de reproductibilité

En biologie, le choix d'une méthode de dosage repose sur plusieurs critères parmi lesquels prennent place la répétabilité, la reproductibilité et la linéarité.

La REPETABILITE contrôle si la méthode donne, **à un instant donné** (par exemple aujourd'hui) **et sur un même échantillon** (sérum de contrôle ou solution de contrôle), **le même résultat**.

La REPRODUCTIBILITE contrôle si la méthode donne, **dans le temps** (par exemple chaque jour) **et sur un même échantillon** (sérum de contrôle ou solution de contrôle), **le même résultat**.

Il est évident que ceci doit être vrai pour toutes les concentrations : valeurs inférieures à la normale (bas), valeurs normales (moyen), valeurs supérieures à la normale (haut).

On imagine qu'il est impossible de contrôler toutes les concentrations (serait trop cher, trop demandeur de temps technique), c'est pourquoi on se limite à étudier la réponse du réactif dans les zones de concentration faible, normale et haute (bas, moyen, haut).

Test de répétabilité

L'objectif recherché est de s'assurer, par exemple, que lorsque tout est parfaitement stable par ailleurs (matériel, pipettes, sérums de contrôle, manipulateur...), un coffret réactif acheté dans le commerce donne des résultats précis et fiable à un instant donné dans toutes les zones de mesure (bas, moyen, haut).

Exemple contrôler le coffret réactif de dosage du glucose acheté dans le commerce et utilisé au laboratoire pour des concentrations en glucose faibles, normales et élevées.

Le fabricant annonce performances suivantes :

Répétabilité **C V = 2,50 % pour une concentration de 5,55 mmol/l**

Matériels nécessaires

Le coffret réactif étudié.

Tubes à essais.

Colorimètre (ou spectrophotomètre).

Solution de contrôle (ou sérum de contrôle) à concentration en glucose élevée (par exemple 16,12 mmol/l).

Solution de contrôle (ou sérum de contrôle) à concentration en glucose normale (par exemple 5,60 mmol/l).

Solution de contrôle (ou sérum de contrôle) à concentration en glucose basse (par exemple 2,54 mmol/l).

Feuille de recueil des résultats (voir annexe).

Réalisation du test

L'essai est réalisé sur chaque sérum de contrôle (bas, moyen, haut) que l'on dose 10 fois de suite en une série unique avec le réactif étudié (réactif de dosage du glucose).

Les résultats des 3 séries de 10 dosages (soit 30 résultats) sont reportés dans un tableau de calcul regroupant les 3 types de solutions de contrôle (bas, moyen, haut).

Effectuer les calculs comme précédemment.

Remarques :

☞☞☞ Dans cet exemple on s'est limité à une série de 10 échantillons au lieu des 30 préconisés car il s'agit ici , non pas d'établir, comme dans l'exemple précédent, la valeur de la concentration de la solution préparée au laboratoire, mais simplement de vérifier, par vous-même, les performances d'un coffret réactif connu et commercialisé.

Interprétation des résultats

Tableau récapitulatif des calculs

N°	Résultats	(M-Dosage)	(M-Dosage) ²	Résultats	(M-Dosage)	(M-Dosage) ²	Résultats	(M-Dosage)	(M-Dosage) ²
1	2,54	0,04	0,00152	5,60	-0,01	0,00014	16,12	0,025	0,00062
2	2,68	-0,10	0,01020	5,65	-0,06	0,00384	16,15	-0,005	0,00002
3	2,59	-0,01	0,00012	5,51	0,08	0,00608	16,22	-0,075	0,00562
4	2,44	0,14	0,01932	5,54	0,05	0,00230	16,01	0,135	0,01822
5	2,62	-0,04	0,00168	5,68	-0,09	0,00846	16,00	0,145	0,02102
6	2,69	-0,11	0,01232	5,59	0,00	0,00000	16,23	-0,085	0,00723
7	2,65	-0,07	0,00504	5,51	0,08	0,00608	16,12	0,025	0,00062
8	2,45	0,13	0,01664	5,47	0,12	0,01392	16,21	-0,065	0,00423
9	2,49	0,09	0,00792	5,64	-0,05	0,00270	16,14	0,005	0,00002
10	2,64	-0,06	0,00372	5,69	-0,10	0,01040	16,25	-0,105	0,01103
Total	25,79		0,07849	55,88		0,05396	161,450		0,06865
Moyenne	2,58	Variance	0,00872	5,59	Variance	0,00600	16,145	Variance	0,00763
		E.T	0,093		E.T	0,077		E.T	0,087
		CV %	3,62		CV %	1,39		CV %	0,54

Conclusions du test

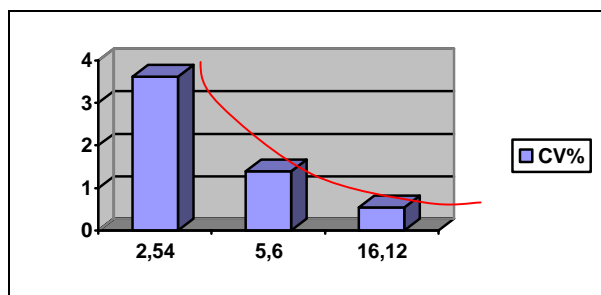
L'examen des 3 valeurs calculées des CV% (bas, moyen, haut) indiquent que le coffret est excellent pour les concentrations comprises dans une zone allant de la normale à au moins 16,12 mmol/l. Le réactif est moins bon dans les valeurs plus faibles autour de 2,50 mmol/l.

Avec déjà un CV % à 3,62 pour une concentration de 2,54 mmol/l, le CV risque d'être encore plus élevé pour des concentrations plus faibles que 2,54 mmol/l.

Le coffret n'est plus assez performant pour des concentrations inférieures à 2,50 mmol/l.

Les performances annoncées par le fabricant sont respectées à 5,55 mmol/l.

Mais le réactif ne doit pas être utilisé pour le dosage du glucose dont la concentration est inférieure à 2,50mmol/l.



Test de reproductibilité

L'objectif recherché est de s'assurer, par exemple, que lorsque tout est parfaitement stable par ailleurs (matériel, pipettes, sérums de contrôle, manipulateur...), un coffret réactif acheté dans le commerce donne, dans le temps, des résultats précis et fiables dans toutes les zones de mesure (bas, moyen, haut).

Exemple contrôler le coffret réactif de dosage du glucose acheté dans le commerce et utilisé au laboratoire pour des concentrations en glucose faibles, normales et élevées.

Le fabricant annonce performances suivantes :

Reproductibilité 3,60 % à 5,55 mmol/l

Matériels nécessaires

Le coffret réactif étudié

Tubes à essais.

Colorimètre (ou spectrophotomètre)

Solution de contrôle (ou sérum de contrôle) à concentration en glucose élevée (par exemple 16,12 mmol/l).

Solution de contrôle (ou sérum de contrôle) à concentration en glucose normale (par exemple 5,60 mmol/l).

Solution de contrôle (ou sérum de contrôle) à concentration en glucose basse (par exemple 2,54 mmol/l).

Feuille de recueil des résultats (voir annexe).

Réalisation du test

Le test ressemble à celui réalisé pour la répétabilité mais comme le but recherché est de contrôler le réactif dans le temps sur toute sa zone de mesure, on réalise les dosages de chaque solution de contrôle (bas, moyen, haut), **non plus en 1 seule fois dans une série unique mais, à raison de 1 dosage par jour pendant au moins 10 jours** (ou 20 jours ce qui est mieux).

Les résultats des 3 séries de 10 dosages (soit 30 résultats) sont reportés dans un tableau de calcul regroupant les 3 types de solutions de contrôle (faible, normale et élevée).

Interprétation des résultats

Tableau récapitulatif des calculs

N°	Résultats	(M-Dosage)	(M-Dosage) ²	Résultats	(M-Dosage)	(M-Dosage) ²	Résultats	(M-Dosage)	(M-Dosage) ²
1	2,54	0,04	0,00152	5,60	0,00	0,00002	16,12	0,003	0,00001
2	2,68	-0,10	0,01020	5,68	-0,08	0,00706	16,25	-0,127	0,01613
3	2,59	-0,01	0,00012	5,41	0,19	0,03460	16,28	-0,157	0,02465
4	2,40	0,18	0,03204	5,69	-0,09	0,00884	15,89	0,233	0,05429
5	2,62	-0,04	0,00168	5,45	0,15	0,02132	15,82	0,303	0,09181
6	2,69	-0,11	0,01232	5,72	-0,12	0,01538	16,38	-0,257	0,06605
7	2,65	-0,07	0,00504	5,42	0,18	0,03098	15,85	0,273	0,07453
8	2,45	0,13	0,01664	5,47	0,13	0,01588	16,21	-0,087	0,00757
9	2,49	0,09	0,00792	5,76	-0,16	0,02690	16,08	0,043	0,00185
10	2,68	-0,10	0,01020	5,76	-0,16	0,02690	16,35	-0,227	0,05153
Total	25,79		0,09769	55,96		0,18784	161,230		0,38841
Moyenne	2,58	Variance	0,01085	5,60		0,02087	16,123		0,04316
		E,T	0,104			0,144			0,208
		C V %	4,04			2,58			1,29

Conclusions du test

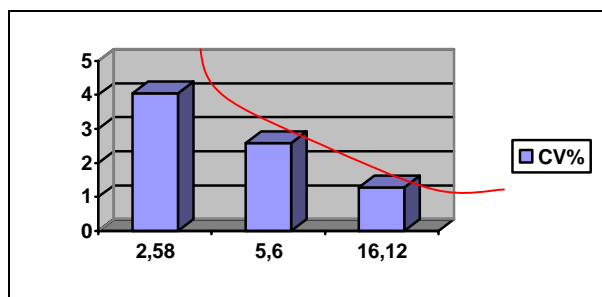
L'examen des 3 valeurs calculées des CV% (bas, moyen, haut) indiquent que le coffret est excellent pour les concentrations comprises dans une zone allant de la normale à au moins 16,12 mmol/l. Le réactif est moins bon dans les valeurs plus faibles autour de 2,50 mmol/l.

Avec déjà un CV % à 4,04 pour une concentration de 2,58 mmol/l, le CV% risque d'être encore plus élevé pour des concentrations plus faibles que 2,58 mmol/l.

Le coffret n'est plus assez performant pour des concentrations inférieures à 2,50 mmol/l.

Les performances annoncées par le fabricant sont respectées à 5,55 mmol/l.

Mais le réactif ne doit pas être utilisé pour le dosage du glucose dont la concentration est inférieure à 2,50 mmol/l.



Conclusions générales de l'étude reproductibilité et répétabilité

Le coffret présente de très bonnes performances dans les zones de moyenne et de moyenne et haute concentrations. Ses performances (reproductibilité et répétabilité) sont inférieures à celles annoncées par le fabricant dans la zone des faibles concentrations (2,50 mmol/l).

Comme 2,50 mmol/l est une zone où les dosages de patients sont peu fréquents, on peut considérer que ce coffret est acceptable et peut être utilisé au laboratoire.

Il est évident que si le laboratoire dose souvent des glycémies vers 0,50 g/l (= 2,50 mmol/l) ou des glycémies encore plus faibles, ce réactif ne doit absolument pas être utilisé au laboratoire

3) NOTION DE LINEARITE. DOMAINE DE MESURE

La LINEARITE contrôle la zone des concentrations à l'intérieure de laquelle le réactif donne un résultat directement proportionnelle à la concentration du produit dosé.

L'objectif recherché est de s'assurer, par exemple, que lorsque tout est parfaitement stable par ailleurs (matériel, pipettes, sérums de contrôle, manipulateur...), un coffret réactif acheté dans le commerce donne, dans toutes les zones de mesure (bas, moyen, haut) un résultat directement proportionnelle à la concentration du produit dosé.

Exemple contrôler la linéarité et déterminer le domaine de mesure d'un coffret réactif de dosage du glucose acheté dans le commerce et utilisé au laboratoire pour des concentrations en glucose faibles, normales et élevées.

Le fabricant annonce les performances suivantes :

Linéarité : linéaire jusqu'à 60 mmol/l

Matériels nécessaires

* Coffret réactif étudié

* Solution de contrôle concentrée par exemple à 100 mmol/l.

Il faut toujours pour réaliser ce test disposer d'une solution de contrôle de glucose de concentration très supérieure (1,5 à 2 fois) à celle annoncée par le fabricant. Ceci est nécessaire au repérage précis des concentrations seuils des zones de linéarité et de non linéarité de la courbe.

* Pipettes de précision sèches et propres de classe A (= double traits) ou de classe B (1ml graduée au 1/100^e) ou encore * Pipette de précision type SMI, Socorex, Merck, Prolabo...réglable de 0 à 1000 microlitres.

* Tubes à essais propres et secs.

* Poire pour aspirer.

* Parafilm (type 3M) pour agiter les tubes.

* Colorimètre (ou spectrophotomètre)

* Feuille de papier millimétré.

Réalisation du test de linéarité

L'essai est réalisé sur une série de dilution de la solution de contrôle de glucose de concentration 100 mmol/l. Pour que l'essai soit interprétable, il faut que les dilutions couvrent toutes la zone de mesure depuis 100 mmol/l jusqu'à 0 mmol/l.

Par exemple, dans le cas du glucose les dilutions seront réalisées pour obtenir des solutions allant de 5 en 5 mmol/l de 0 mmol/l à 100 mmol/l.

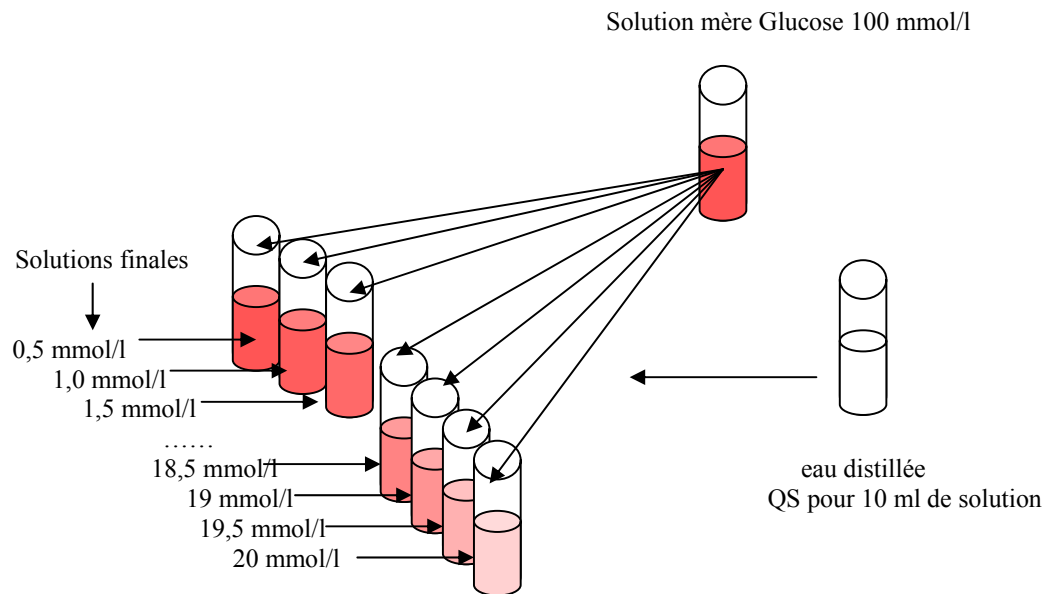
Pour faciliter les pipetages, **Préparation des dilutions** préparer 10 ml de chaque dilution.

Dans les tubes à essai, distribuer les solutions de la façon suivante :

Solutions filles	Solution à 100 mmol/l	Eau distillée
Solution à 95 mmol/l	0,5 millilitre(s)	9,5 millilitres
Solution à 90 mmol/l	1	9
Solution à 85 mmol/l	1,5	8,5
Solution à 80 mmol/l	2	8
Solution à 75 mmol/l	2,5	7,5
Solution à 70 mmol/l	3	7
Solution à 65 mmol/l	3,5	6,5
Solution à 60 mmol/l	4	6
Solution à 55 mmol/l	4,5	5,5
Solution à 50 mmol/l	5	5
Solution à 45 mmol/l	5,5	4,5
Solution à 40 mmol/l	6	4
Solution à 35 mmol/l	6,5	3,5
Solution à 30 mmol/l	7	3
Solution à 25 mmol/l	7,5	2,5
Solution à 20 mmol/l	8	2
Solution à 15 mmol/l	8,5	1,5
Solution à 10 mmol/l	9	1
Solution à 5 mmol/l	9,5	0,5

Boucher chaque tube avec un carré de Parafilm.

Agiter chaque tube pour mélanger.



Effectuer le dosage de chaque solution de glucose

Reporter les résultats obtenus sur une feuille de papier millimétré comme indiqué dans le schéma suivant :

Interprétation des résultats

Tableau récapitulatif des résultats

Tubes	Solutions	Concentrations attendues mmol/l	Concentrations mesurées mmol/l
1	Solution à 100 mmol/l	100	80,19
2	Solution à 95 mmol/l	95	79,31
3	Solution à 90 mmol/l	90	78,63
4	Solution à 85 mmol/l	85	77,82
5	Solution à 80 mmol/l	80	75,01
6	Solution à 75 mmol/l	75	72,16
7	Solution à 70 mmol/l	70	68,46
8	Solution à 65 mmol/l	65	64,30
9	Solution à 60 mmol/l	60	59,80
10	Solution à 55 mmol/l	55	54,89
11	Solution à 50 mmol/l	50	49,94
12	Solution à 45 mmol/l	45	44,96
13	Solution à 40 mmol/l	40	40,01
14	Solution à 35 mmol/l	35	34,95
15	Solution à 30 mmol/l	30	29,94
16	Solution à 25 mmol/l	25	24,95
17	Solution à 20 mmol/l	20	19,98
18	Solution à 15 mmol/l	15	14,95
19	Solution à 10 mmol/l	10	10,10
20	Solution à 5 mmol/l	5	5,04

On connaît évidemment la concentration de chaque solution filles puisqu'elles ont été préparées à partir de la solution de glucose 100 mmol/l. Au cours du dosage on devrait donc retrouver ces valeurs, c'est pourquoi on dit que ce sont **des valeurs attendues**.

Pour chaque solution on a ainsi une valeur attendue et une valeur expérimentale donnée par le dosage de la solution. Par opposition à la précédente, cette valeur est souvent appelée valeur mesurée.

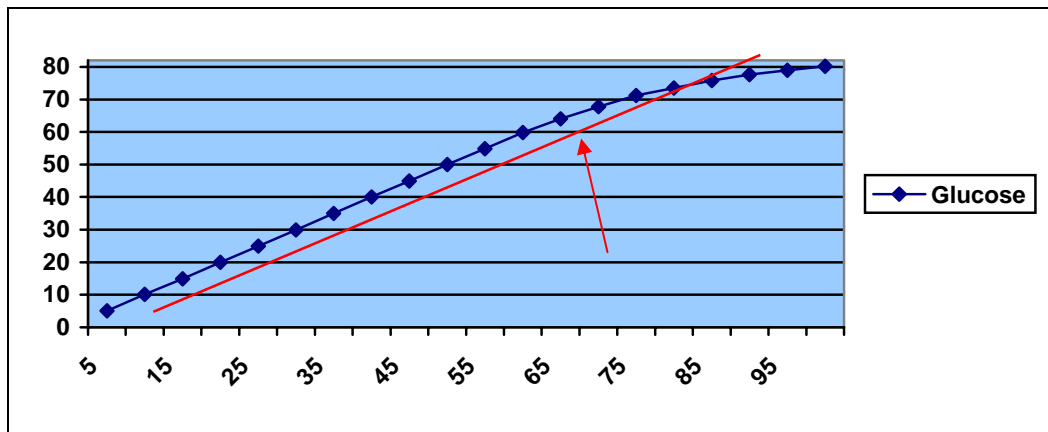
GRAPHIQUE

Tracer le graphique sur papier millimétré.

Tracer ensuite la DROITE passant par le premier point (5 mmol/l) et par le maximum de points correspondants aux solutions plus concentrées.

INTERPRETATION DES RESULTATS

Dans le cadre de l'exemple, la droite passe par tous les points jusqu'à 65 mmol/l (voir le tableau chiffré qui confirme).



Ensuite, la courbe expérimentale s'écarte de la droite.

Le test montre (graphiquement) que le coffret réactif est linéaire jusqu'à 65 mmol/l c'est-à-dire que de 0 mmol/l à 65 mmol/l, la réponse du coffret (coloration, densité optique...) est directement proportionnelle à la concentration en glucose.

Au-delà la réponse n'est plus linéaire et tout échantillon sanguin conduisant à une valeur supérieure à ce seuil (65 mmol/l) devient imprécis.

Dans ces conditions, il ne faut pas rendre le résultat. L'analyse doit être refaite sur l'échantillon de patient dilué au 1/3 ou au 1/4.

ANNEXES

Modèle de feuille de calculs

Détermination de la concentration d'une solution et limites d'acceptabilité

N°	Résultats	(M-Dosage)	(M-Dosage) ²
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			
18			
19			
20			
21			
22			
23			
24			
25			
26			
27			
28			
29			
30			
Total			
Moyenne		Variance	
		E,C	
		C V %	

Modèle de feuille de calculs

Etude de la répétabilité d'un réactif

(niveaux bas, moyen, haut)

N°	Résultats	(M-Dosage)	(M-Dosage) ²	Résultats	(M-Dosage)	(M-Dosage) ²	Résultats	(M-Dosage)	(M-Dosage) ²
1									
2									
3									
4									
5									
6									
7									
8									
9									
10									
Total									
Moyenne		Variance			Variance			Variance	
		E,T			E,T			E,T	
		C V %			C V %			C V %	
M-2ET									
M-1ET									
M+1ET									
M+2ET									

Modèle de feuille de calculs

Etude de la reproductibilité d'un réactif

(niveaux bas, moyen, haut)

N°	Résultats	(M-Dosage)	(M-Dosage) ²	Résultats	(M-Dosage)	(M-Dosage) ²	Résultats	(M-Dosage)	(M-Dosage) ²
1									
2									
3									
4									
5									
6									
7									
8									
9									
10									
Total									
Moyenne		Variance			Variance			Variance	
		E,T			E,T			E,T	
		C V %			C V %			C V %	
M-2ET									
M-1ET									
M+1ET									
M+2ET									

Résumé de l'enseignement donné aux personnels des établissements de santé

mardi 13, mercredi 14 juillet 2004
Institut Nationale des Laboratoires Médicaux
KABOUL

NOTIONS DE CONTROLE DE QUALITE INTERNE

RAPPELS DE BASE EN METROLOGIE

Pr. Jean-Pierre Yvert

1) NOTIONS DE CONTROLE QUALITE APPLIQUE AU LABORATOIRE D'ANALYSES MEDICALES

Pour prétendre être performant notamment en biologie médicale les laboratoires doivent mettre en place un système qualité.

Le système qualité d'un laboratoire peut être défini comme l'ensemble des pratiques mises en œuvre pour assurer la qualité des analyses.

Le contrôle de qualité appliqué aux laboratoires d'analyses médicales évalue et contrôle principalement les procédures et les pratiques relatives aux :

Matériels,
Techniques de dosages,
Personnels.

Selon que les contrôles sont effectués dans le laboratoire lui-même ou par un organisme externe (officiel ou non), le contrôle de qualité sera appelé contrôle de qualité interne (CQI) ou contrôle de qualité externe (CQE).

A) Contrôle de qualité interne

C'est le contrôle réalisé par le laboratoire lui-même. Il concerne tout le personnel. Tout le personnel doit y participer. Il est indispensable à la mise en place de l'étape suivante, c'est-à-dire le contrôle de qualité externe.

Nous ne développerons pas le contrôle des personnels car il s'agit essentiellement de formation continue assurée par le responsable du laboratoire.

Nous traiterons en revanche, à travers quelques exemples concrets de l'importance du CQI appliqué aux matériels et aux techniques car il conditionne la confiance que les médecins et les malades ont vis-à-vis du laboratoire.

Contrôle de qualité interne appliqué aux techniques de dosage

Cette démarche est la suite logique de ce que nous avons vu précédemment.

En effet, nous savons :

- contrôler un réactif préparé localement,

- déterminer sa concentration et calculer ses bornes d'acceptabilité,
- suivre sa stabilité dans le temps.

Nous savons aussi contrôler et surveiller les principales performances annoncées d'un coffret réactif acheté dans le commerce (répétabilité, reproductibilité, linéarité).

Il nous faut maintenant surveiller si, dans les conditions habituelles d'utilisation au laboratoire, une technique donnée fournit des résultats biologiques dont on peut avoir confiance dans le temps.

Pour cela il faut un repère fiable auquel on se réfère.

En biologie, pour un paramètre donné, ce repère est essentiellement une solution ou un sérum de contrôle de la substance. Il s'agit d'une solution dont on connaît la concentration exacte et les limites d'acceptabilité et que l'on analyse tous les jours, dans chaque série de patients, dans les conditions habituelles de travail (comme un prélèvement de patient).

On regarde ensuite si le résultat donné par ce contrôle est bien dans la zone d'acceptabilité définie par la fabriquant.

Dans la pratique, afin de contrôler la technique sur l'ensemble de son domaine de mesure, plusieurs contrôles sont utilisés. On utilise ainsi des contrôles de faible, moyenne et haute concentrations (sérums de contrôle haut, moyen, bas).

Remarques

Il est fortement conseillé de disposer de sérums de contrôle achetés dans le commerce. Ces produits sont en effet :

- garantis par le fabriquant notamment la concentration cible et les limites d'acceptabilité,
- stabilisés ce qui leurs donne une bien meilleure conservation. (contiennent des conservateurs et des antiprotéases type inhiprol, azide de sodium 0,1%...).

Exemple : Contrôle de qualité interne du glucose

Matériels

- On dispose de 3 sérums de contrôles achetés dans le commerce dont les caractéristiques données par le fabriquant sont les suivantes :

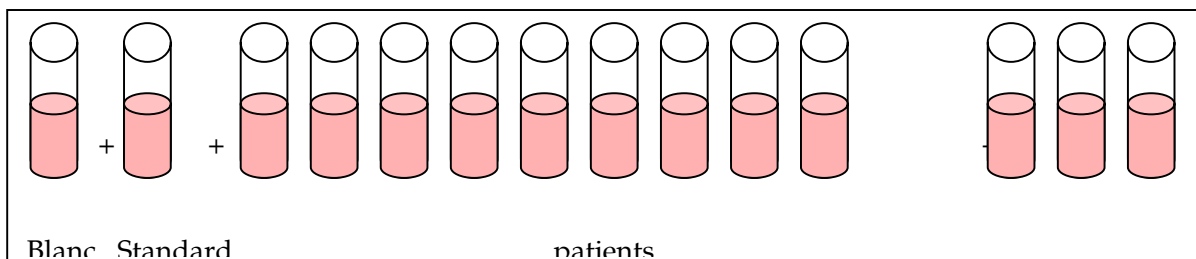
Glucose	Bas	Moyen	Haut
Concentrations g/l	0,65	1,03	2,59
Limites acceptables (+/- 2 E.T)	(0,59-0,71)	(0,95-1,11)	(2,44-2,74)

- Coffret réactif habituel utilisé pour le dosage du glucose

Procédure

Il suffit d'adjoindre chaque jour dans la série des analyse de patients, les sérums de contrôle Bas, Moyen, Haut.

Chaque série aura donc la constitution suivante :



Faire les analyses de la série.

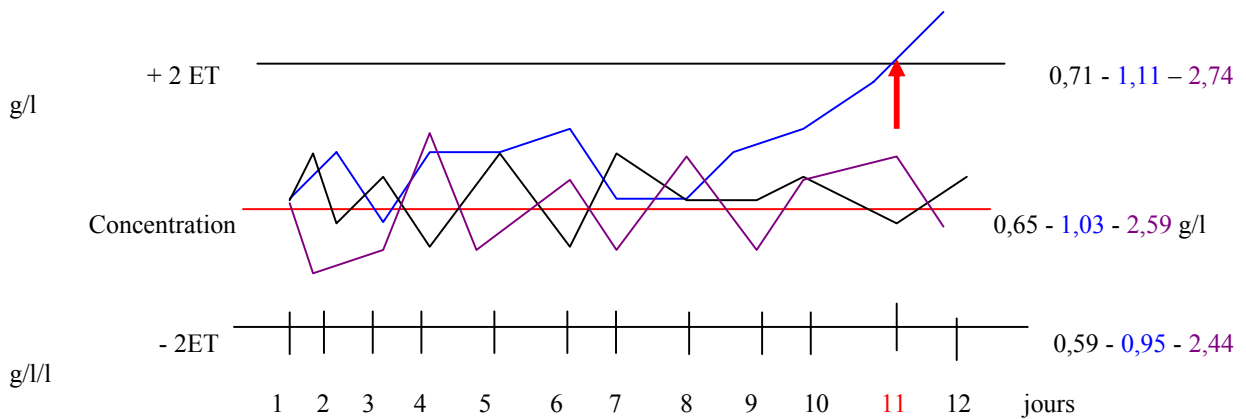
Le Blanc sert à régler le zéro optique du colorimètre ou du spectrophotomètre.

Le standard sert à calculer la concentration en glucose contenu dans chaque sang

Les contrôles (Bas, Moyen et Haut) servent à vérifier la stabilité de l'ensemble à l'aide de diagramme

Les résultats des contrôles placés dans chaque série sont reportés sur un diagramme de contrôle de qualité comme suit (papier millimétré) :

- Bleu = contrôle Moyen
- Noir = contrôle Bas
- Violet = contrôle haut



Indiquer chaque jour les noms des techniciens avant																						
Ali	Lariri	Homaira	Ali	Ali	Karim	Karim																

Interprétation

Tous les contrôles (bas, moyen et haut) passés jusqu'au jour 11 ont des valeurs situées dans les bornes d'acceptabilité données par le fabriquant.

Le jour 11, la valeur du contrôle moyen est sortie de la zone d'acceptabilité, tandis que les contrôles bas et élevé restaient dans la zone. Cette anomalie confirme la tendance des jours précédents où l'on constate que la valeur de ce contrôle s'élève régulièrement.

Conclusion

Une anomalie est intervenue sur le contrôle moyen (contamination....).

Les dosages des patients ne peuvent pas être rendus aux médecins sans avoir auparavant contrôlé la technique avec un nouveau flacon de contrôle moyen.

Les résultats de patients ne seront rendus que si le nouveau contrôle est trouvé dans la zone d'acceptabilité.

Si la dérive persiste la technique sera étudiée point par point afin de retrouver l'origine du dysfonctionnement observé. Dans ce cas les glycémies effectuées avec cette technique ne seront pas rendues.

☞☞☞ **Le CQI permet donc de mettre en évidence des anomalies survenant sur le ou les paramètres étudiés. C'est pourquoi il doit être impérativement pratiqué sur toutes les analyses pratiquées du laboratoire. Ce n'est qu'à ce prix que le laboratoire sera reconnu fiable et performant.**

Remarques

Afin de pouvoir justifier la mise en place des mesures de qualité, l'ensemble des documents CQI doivent être **contresigné par le chef de service et archivé au moins 5 ans.**

Un modèle de feuille est proposé en annexe

B) Contrôle de qualité externe

Contrairement au précédent, le contrôle de qualité externe est un contrôle organisé par un organisme (officiel ou non) externe au laboratoire.

Le contrôle a pour but d'harmoniser les techniques et les résultats afin qu'un même sang donne, dans tous les laboratoires qui utilisent la même technique, le même résultat.

Il consiste à envoyer à tous les laboratoires un échantillon identique dont les concentrations de différents paramètres sont parfaitement connues de l'organisme organisateur du contrôle mais inconnues pour les laboratoires et pour lequel il est demandé au laboratoire de pratiquer certaines analyses.

Après analyse, tous les résultats ainsi que les techniques exactes utilisées sont adressés à l'organisme qui gère ce contrôle pour y être traités.

Après traitement statistique des résultats, le laboratoire reçoit un document qui le renseigne sur la qualité de son travail et lui demande de faire les corrections nécessaires en cas de discordances.

2) SURVEILLANCE DES APPAREILLAGES

Il n'est pas possible d'obtenir de bons résultats analytiques sans vérifier régulièrement ses appareils. Chaque appareil doit être obligatoirement vérifié au titre de sa fonctionnalité et au titre de ses performances.

La fonctionnalité, porte essentiellement sur tous les éléments mécaniques de l'ensemble (ex : lampe, boutons électriques, sélecteur de longueur d'onde, glissières, alarmes...)

- Les performances compare les performances attendues (celles annoncées par le constructeur) à celles réellement observées (ex : le thermostat d'une étuve ou d'un bain-marie indique 37°C, mais, l'eau du bain-marie est-elle bien à 37°C ?; une pipette automatique annoncée pour 200 microlitres délivre-t-elle réellement 200 microlitres ?...).

☞☞☞ **Le fait qu'un appareil fonctionne bien ne garantit pas ses performances donc sa qualité.**

Dans la pratique, dans les pays européens,

- la fonctionnalité est surveillée par les utilisateurs qui assure l'entretien journalier des appareils et par les fabricant par le biais de contrats de maintenance (préventive et curative).
- Les performances sont vérifiées par des organismes agréés externes qui délivrent des certificats.

Selon leur nature les appareils doivent faire l'objet d'une surveillance attentive dont la fréquence est fonction de l'incidence qu'un dysfonctionnement peut avoir sur la qualité des analyses.

Pour un laboratoire de biologie médicale, on peut ainsi schématiquement proposer le tableau de surveillance suivant :

Appareils	Fonctionnalité	Performances	Contrat de maintenance
Réfrigérateur	C'est une surveillance que tous les utilisateurs doivent faire tous les jours. Ils doivent signaler tout incident ou panne de fonctionnement. Ils doivent réparer eux même ou à défaut faire rapidement réparer tout dysfonctionnement connu.	journalière	
Bain-marie		journalière	
Etuve		journalière	
Pipettes		En fonction des besoins	
Centrifugeur		Annuelle	X
Colorimètre, Spectrophotomètre		Annuelle	X
Balance		Annuelle	X
Agitateur électrique		Au moins une fois /2ans	
Hotte aspirante		Au moins une fois /2ans	X
Automates d'analyses		Annuelle	X (hautement conseillé)

Exemples pratiques

1) Mise en place d'un programme de surveillance des appareils du laboratoire

La surveillance des appareils implique des actions multiples qu'il faut bien programmer dans le temps notamment lorsqu'elles font intervenir des sociétés externes. Il est aussi impératif de pouvoir justifier le bon entretien de ses appareils.

Pour mener à bien ces deux exigences le mieux est de programmer les différentes interventions afin de mieux suivre leur exécution et d'en oublier aucune.

Pour satisfaire ces exigences, le mieux est de réaliser chaque année un programme écrit comme par exemple celui proposer ci-après et dont la matrice est donnée en annexe.

Le document permet de pointer ce qui a été fait, quand et n'a pas été fait ou oublié.
Il peut être archivé et permet ainsi de justifier les actions entreprises.

Institut nationale des laboratoires médicaux KABOUL	<u>Fiche de programmation de maintenance des appareils</u> Année 2003			Version n° 1 Appliquée le: 01 Janvier 2003
Appareils	Localisation	Date programmée	Date de réalisation	Observation
Centrifugeuse	biochimie	10 février	24 mars	OK
Centrifugeuse	hémato	10 février	24 mars	OK
Centrifugeuse	bactério	10 février	24 mars	Appareil désuet. A changer
Balance de précision	biochimie	mars	10 juin	Appareil désuet. A changer
Automate d'immunoanalyse	biochimie	Avril	17 mai	OK

Spectrophotomètre	biochimie	Juin		
Hotte	bactério	octobre	20 octobre	Charbons moteurs changés
		Attention appareil non contrôlé au cours de l'année. A réaliser en priorité		
Vu le directeur du département Le : 15 janvier 2004		Signature responsable du département		
Document archivé : * le : 25 juillet 2004		Lieu : Responsable :	Laboratoire de biochimie Chef de département	

A la fin de l'année on constate que l'automate d'immunoanalyse n'a pas été contrôlé. Il sera mis en priorité l'année suivante et sa réalisation en début d'année particulièrement surveillée.

2) Surveillance de la température des réfrigérateurs et bains-marie.

La surveillance des températures des réfrigérateurs est impérieuse car les réactifs, les sérums de contrôles, les standards, les échantillons....doivent être conservés entre + 4 et +6 °C pour ne pas se dégrader et ne pas entraîner d'erreur de dosages. Certains réactifs fragiles doivent être conservés au congélateur (Ex : plaques pour KodakEktachem DT 60....).

De même les bains-marie doivent être à bonne température car la température intervient dans le développement des différentes réactions chimiques utilisées pour les dosages (ex : en enzymologie une erreur de un degré sur la température du bain-marie entraîne une erreur de 10 % sur le résultat de l'analyse).

Compte tenu des conditions locales (température, réseau électrique...) les températures seront notées 2 fois/jour.

Il faut donc que tous les frigos et les bains-marie disposent en permanence d'un thermomètre placé à l'intérieur du frigo ou dans le bain-marie.

Exemple de surveillance des températures des réfrigérateurs :

Institut nationale des laboratoires médicaux KABOUL		Fiche de surveillance des températures des réfrigérateurs Année 2004			Version n° 1 Appliquée le: 01 septembre 2004
Frigo n°1		Mois : Juin			Labo de biochimie
J	Température matin	Température soir	Nom du contrôleur	Signature	Observation
1	5,2	5,8	Karim		
2	5,2	5,8	Karim		
3	5,5	5,2	Karim		
4	5,0	5,8	Karim		
5	5,2	5,8	Karim		
6	5,2	7,5	Karim		
7	5,8	5,2	Karim		
8	6,1	5,2	Trina		
9	5,9	7,5	Trina		Fortes chaleurs
10	5,8	7,6	Trina		Nombreuses coupure électricité
11	5,2	6,1	Trina		
12	5,8	6,1	Trina		
13	5,4	6,8	Trina		
14	6,1	7,2	Trina		Nombreuses coupure électricité
15	6,1	7,0	Ali		Nombreuses coupure électricité
16	6,0	7,5	Ali		Nombreuses coupure électricité
17	6,1	5,8	Ali		
18	5,8	5,8	Ali		
19	5,8	6,5	Ali		
20	5,8	6,1	Ali		
21	5,8	12,1	Ali		Frigo en panne réactifs transférés frigo 2
22	/	/	/		Frigo en panne réactifs transférés frigo 2
23	/	/	/		Frigo en panne réactifs transférés frigo 2
24	5,0	5,8	Karim		Remise en service du frigo
25	5,0	6,8	Karim		
26	5,0	5,8	Karim		
27	5,8	6,7	Karim		Nombreuses coupure électricité
28	5,3	6,7	Karim		
29	5,3	6,1	Karim		
30	5,0	5,8	Karim		
31					
Vu le directeur du département Le : 05 juillet 2004			Signature responsable du département		
Document archivé : * le : 05 juillet 2004			Lieu : Laboratoire de biochimie Responsable : Chef de département		

Remarques

Afin de pouvoir justifier la mise en place des mesures de qualité, l'ensembles de ces documents CQI doivent être **contresigné par le chef d e service et archivé au moins 5 ans.**

Des modèles de feuilles sont proposés en annexe

3) NOTIONS DE METROLOGIE APPLIQUE AU LABORATOIRE D'ANALYSES MEDICALES

1) Surveillance des balances de précision.

Les balances de précision sont contrôlées par des organismes agréés qui délivrent des certificats après contrôles.

On peut cependant surveiller ses balances à l'aide de « poids étalons » que l'on peut acheter dans le commerce.

Ces poids sont très fragiles et demande lors de l'utilisation beaucoup de soins. Ils ne doivent par exemple toujours être conservés dans leur coffret spécial et ne doivent **jamais** (même lors des contrôles) être pris à la main mais **toujours avec des pinces** pour ne pas les oxyder.

Avec ses poids le contrôle consiste à vérifier la concordance du poids théorique avec celui indiqué par la balance.

2) Contrôle des pipettes de précision.

Schématiquement, on distingue deux classes principales de pipettes de précisions : Classe A : Ce sont des pipettes à **double traits** d'une très grande précision (environ 0,007% pour 1 ml) qui ne délivrent qu'un volume donné. Il existe pratiquement une pipette pour chaque volume.

- Classe B : Ce sont des pipettes très précises (environ 0,01% pour 1 ml). Elles sont graduées selon le cas au 1/100^e, au 1/20^e, au 1/10^e, au 1/5^e. Elles sont dites à écoulement total. Quand on les utilise, il faut toujours laisser le **liquide s'écouler seul** en appliquant le bout de la pipette sur le bord du récipient (angle environ 20 à 40°). Il reste toujours un peu de liquide au bout de la pipette dont il a été tenu compte lors de l'étalonnage de la pipette c'est pourquoi avec ces pipettes il ne faut jamais souffler dans la pipette pour évacuer le liquide.

Exemple



Les pipettes doivent être nettoyées avec soins (mélange sulfochromique), rincées à l'eau distillée et séchées à température ambiante jamais à l'étuve car le verre se dilate à chaud et ne revient jamais à son état initial.

Il existe plusieurs procédures pour contrôler le volume délivré par une pipette de précision. La plus pratique et la plus économique fait appel à la pesée.

Principe

Par principe 1 litre d'eau à 4°C pèse exactement 1 Kg. Un millilitre pèse 1gramme et un microlitre 1 milligramme.

Il suffit donc de peser sur une balance de précision le volume délivré par une pipette pour connaître son volume.

Réalisation du contrôle

Pour des raisons pratiques l'essai se réalise avec de l'eau à température ambiante.

Le contrôle se pratique comme pour un réactif dont on ne connaît pas exactement la concentration.

On pratique une série d'au moins 10 pesées sur lesquelles sera effectué un calcul statistique (moyenne, variance, écart type et CV%).

Le résultat est comparé aux performances annoncées par le fabricant. (Elles sont généralement gravées sur la pipette).

Sur une balance on place un bécher contenant un tube à essai d'un volume suffisant (au moins 12 fois le volume à contrôler).

Le zéro de la balance étant fait (ou le poids de l'ensemble noté) on ajoute le volume délivré par la pipette à contrôler (par exemple 1 ml) on note soigneusement le poids. On répète cela au moins 10 fois.

Calculs (pipette classe B de 1 ml)

N°	Pesées	Poids de chaque ajout	différence	(dif) ²
1	1,0014	1,0014	-0,00049	0,000000240
2	2,0015	1,0001	0,00081	0,000000656
3	3,0024	1,0009	0,00001	0,000000000
4	4,0031	1,0007	0,00021	0,000000044
5	5,0042	1,0011	-0,00019	0,000000036
6	6,0054	1,0012	-0,00029	0,000000084
7	7,0063	1,0009	0,00001	0,000000000
8	8,0070	1,0007	0,00021	0,000000044
9	9,0080	1,0010	-0,00009	0,000000008
10	10,0091	1,0011	-0,00019	0,000000036
Total		10,0091		0,000001149
Moyenne		1,00091		
Variance				0,000000128
E,T				0,000357305
CV %				0,03569799
M-2ET	1,0001954			
M-1ET	1,0005527			
M+1ET	1,0012673			
M+2ET	1,0016246			

La pipette testée donne en moyenne 1,00091 gramme par ajout soit 1000 microlitres+0,91 microlitre

Interprétation

Le fabricant annonce 1 ml à +/- 0,05 % soit 1 ml +/- 0,0001ml soit 1000µlitres +/-0,50 µlitre.

La pipette étudiée n'est pas dans les normes annoncées par le fabricant.

Elle a peu être par exemple été séchée à température élevée (étuve 100°C ou plus).

4) GENERAUX PRATIQUES APPLICABLES AU LABORATOIRE D'ANALYSES MEDICALES

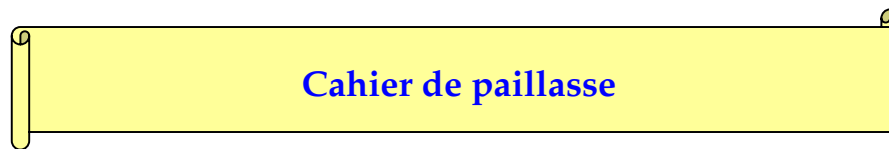
1) Domaine de la Gestion-Organisation

La qualité implique quelques règles incontournables.

- La plus importante d'entre elles est l'obligation de manipuler dans des conditions qui conduisent à l'obtention de résultats fiables et reproductibles. Pour cela il faut impérativement et exclusivement

Dans cet esprit, le bouche à oreille, le colportage, le compagnonnage sont interdits car il déforment au fil du temps l'information initiale et conduisent à des erreurs qui peuvent être néfastes pour les malades

- Afin de suivre à la trace les différents événements inhérents à une paillasse et pouvoir les retrouver en cas de besoins (par exemple pour comprendre pourquoi une analyse dérive subitement, pour pouvoir comparer les résultats dans le temps...), il faut disposer d'un cahier de paillasse sur lequel sera inscrit dans l'ordre chronologique les résultats des analyses, des standards, des contrôles, les numéros de lots des réactifs ainsi que les résultats des fabrications et des contrôles des réactifs faits sur place.
Cette pratique est importante car elle permet aussi de pouvoir présenter aux fabricants des preuves de dysfonctionnements et de justifier son point de vue.



- Pour retrouver et exploiter facilement les informations il faut les stocker méthodiquement (par années par exemple une année par classeur).

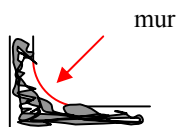


La durée de stockage conseillée est de 5 ans.

2) Domaine technique

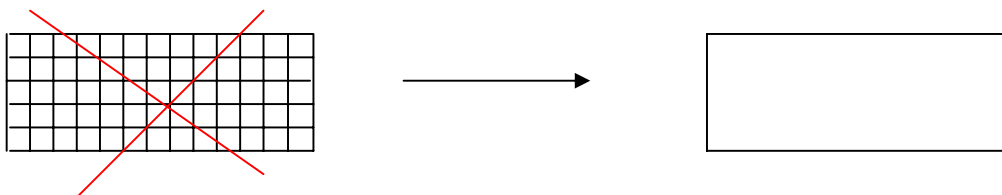
Lors de la conception ou de la réfection des laboratoires ne pas oublier quelques conseils pratiques :

- Penser à arrondir ou à faire arrondir les angles de murs et de planchers de même que les angles de murs et de paillasses. Cela permet un meilleur nettoyage des surfaces et favorise la décontamination



plancher ou paillasse

- Prévoir des paillasses avec des surfaces de travail présentant le moins de raccords et de joints possibles car ce sont des niches à microbes et à contaminations.
Choisir des grandes surfaces faciles à nettoyer et à décontaminer donc éviter les petits carreaux.



Contrôle de qualité

Année :
Mois :

Paramètre :



1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
29	30	31																									

Observations : (incidents susceptibles d'affecter les dosages ou les réactifs, numéros de lots des réactifs).

Instituted nationale des laboratoires médicaux KABOUL	<u>Fiche de programmation de maintenance des appareils</u> Année			Version n° 1 Appliquée le:
Appareils	Localisation	Date programmée	Date de réalisation	Observation
Vu le directeur du département Le :		Signature responsable du département		
Document archivé : * le :		Lieu : Responsable :		

Institut nationale des laboratoires médicaux KABOUL		<u>Fiche de surveillance des températures des réfrigérateurs</u> Année			Version n° 1 Appliquée le:
Frigo n°		Mois :			Labo de biochimie
J	Température matin	Température soir	Nom du contrôleur	Signature	Observation
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					
12					
13					
14					
15					
16					
17					
18					
19					
20					
21					
22					
23					
24					
25					
26					
27					
28					
29					
30					
31					
Vu le directeur du département Le :			Signature responsable du département		
Document archivé : * le :			Lieu : Responsable :		

Institut nationale des laboratoires médicaux KABOUL		<u>Fiche de surveillance des températures des bains-marie</u> Année			Version n° 1 Appliquée le:
Frigo n°		Mois :			Labo de biochimie
J	Température matin	Température soir	Nom du contrôleur	Signature	Observation
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					
11					
12					
13					
14					
15					
16					
17					
18					
19					
20					
21					
22					
23					
24					
25					
26					
27					
28					
29					
30					
31					
Vu le directeur du département Le :			Signature responsable du département		
Document archivé : * le :			Lieu : Responsable :		

Mission Santé en Afghanistan

03-17 juillet 2004

Enseignement donné aux personnels des établissements de santé Afghans

Contrôle de connaissances

Exercice n°1

Préparation de 500 ml d'une solution ETALON (standard) de Chlorures de sodium (NaCl) à 100 mEq/l.

Vous disposez d'un flacon de NaCl pur sous forme de cristaux dans un flacon.

Expliquer comment vous préparez cette solution et comment vous contrôlez sa concentration ?

Na = 23 ; Cl = 35,5 NaCl = 58,5

Exercice n°2

Un fabricant de réactif vous propose un nouveau coffret réactif de dosage du calcium dans le sang dont les performances vous semblent intéressantes :

La notice du coffret indique :

Critères	N	Concentration	CV %
Reproductibilité	10	80 mg/l	3,2
		102 mg/l	2,7
		120 mg/l	2,5
Répétabilité	10	80 mg/l	3,0
		102 mg/l	2,5
		120 mg/l	2,1
Linéarité	Linéaire jusqu'à 250 mg/l		

Avant de l'acheter vous décidez de contrôler la répétabilité et la linéarité de ce coffret.

1) Comment faites vous ?

(Expliquer simplement ce que vous faites sans résultats chiffrés et sans calculs).

2) Les résultats de vos dosages sont rassemblés dans le tableau n° 1 (répétabilité) et dans le tableau n°2 (linéarité)

- Faites les calculs de répétabilité,
- Faites la courbe de linéarité,
- Donnez vos conclusions par rapport aux performances annoncées par le fabricant.

Donnes chiffrées

A) Répétabilité

Tableau n° 1

	Jour	Résultats
1	4- 07	102
2	5-07	102
3	5- 07	101
4	7-07	100
4	8-07	103
6	11-07	104
7	12-07	104
8	13-07	103
9	14-07	102
10	15-07	103

B) Linéarité

Tableau n° 2

	Concentrations	Résultats
1	20	20,10
2	40	40,20
3	60	60,40
4	80	80,20
4	100	100,30
6	120	119,60
7	140	139,10
8	160	158,90
9	180	177, 00
10	200	195,50
11	220	213,80
12	240	227,30
13	260	239,50
14	280	249,10
15	300	257,20
16	350	264,20
17	400	270,10
18	450	275,10
19	500	279,90

REPONSES

Exercice n°1

1 molécule gramme de Na Cl pèse 58,5grammes.

NaCl donne un ion Na⁺ et un ion Cl⁻ .

Na⁺ et Cl⁻ sont des ions avec une charge + ou -

PM

Leurs Equivalentes sont donc : Eq = $\frac{\text{PM}}{\text{valence}}$

Na = 23/1 Cl = 35,5/1 NaCl = 58,5/1

1 Eq = 1000 mEq = 58,5 grammes/l

100 mEq = 58,5 / 10 = 5,85 g/l donc par litre

Pour 500 ml, il faut peser 5,85/2 = 2,925 g de NaCl.

Préparation :

Dans une fiole jaugée de 50 ml introduire 2,925g de NaCl puis dissoudre dans un peu d'eau distillée et enfin compléter à 500 ml exactement avec de l'eau distillée.

Exercice n°2 (Répétabilité)

N°	Résultats	Différence	(Différence) ²
1	102	0,40	0,160
2	102	0,40	0,160
3	101	1,40	1,960
4	100	2,40	5,760
5	103	-0,60	0,360
6	104	-1,60	2,560
7	104	-1,60	2,560
8	103	-0,60	0,360
9	102	0,40	0,160
10	103	-0,60	0,360
Total	1024		14,40
Moyenne	102,40		
Variance			1,60000
E,T			1,265
C V %			1,24

Exercice n° 2 (Linéarité)

Dans ce cas de figure il est souhaitable de partir par exemple d'une solution étalon de calcium titrant au moins 500 mg/l de calcium.

Le test pourrait se faire de la manière suivante :

Faire une série de tubes dont la concentrations croit dans un premier temps de 20 mg en 20 mg/l de 0 à 300 mg/l puis dans un second temps de 50 en 50 mg/ de 350 à 500 mg/l

Tubes	Solutions à	Concentrations attendues mmol/l	Concentrations mesurées mmol/l
1	20 mg/l	20	20,10
2	40 mg/l	40	40,20
3	60 mg/l	60	60,40
4	80 mg/l	80	80,20
5	100 mg/l	100	100,30
6	120 mg/l	120	119,60
7	140 mg/l	140	139,10
8	160 mg/l	160	158,90
9	180 mg/l	180	177,00
10	200 mg/l	200	195,50
11	220 mg/l	220	213,80
12	240 mg/l	240	227,30
13	260 mg/l	260	239,50
14	280 mg/l	280	249,10
15	300 mg/l	300	257,20
16	350 mg/l	350	264,20
17	400 mg/l	400	270,10
18	450 mg/l	450	275,10
19	500 mg/l	500	279,90

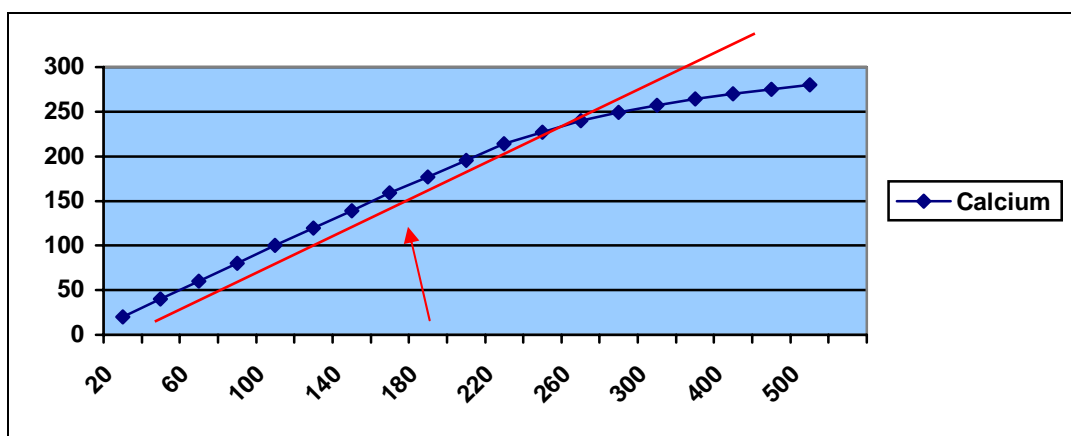
Tracer le graphique sur papier millimétré.

INTERPRETATION DES RESULTATS

Dans le cadre de l'exemple, la droite passe par tous les points jusqu'à 160 mg/l.

Conclusion :

La technique n'est pas linéaire jusqu'à 250 mg/ mais seulement jusqu'à 160-180 mg/l.



Feuille de calcul répétabilité

N°	Résultats	(M-Dosage)	(M-Dosage) ²
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
Total			
Moyenne (M)		Variance	
		E,T	
		C V %	

Graphique de linéarité

