

SOMMAIRE

PARTIE I : THÉORIE

INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
CHAPITRE I : DONNÉES MORPHOPHYSIOLOGIQUES DE LA THYROÏDE	3
1. ANATOMIE THYROÏDIENNE.....	3
1.1 VASCULARISATION ARTÉRIELLE :.....	4
1.1.1 ARTÈRE THYROÏDIENNE SUPÉRIEURE :.....	4
1.1.2 ARTÈRE THYROÏDIENNE INFÉRIEURE :.....	5
1.1.3 ARTÈRE THYROÏDIENNE IMA :.....	5
1.2 DRAINAGE VEINEUX ET LYMPHATIQUE :.....	5
1.3 NERFS LARYNGÉS RÉCURRENTS :.....	6
2. HISTOLOGIE THYROÏDIENNE	6
3. PHYSIOLOGIE THYROÏDIENNE.....	8
3.1 FORMATION ET SÉCRÉTION DES HORMONES THYROÏDIENNES	8
3.1.1 LES ASPECTS CHIMIQUES :.....	8
3.1.2 L'HOMÉOSTASIE DE L'IODE :.....	9
3.1.3 SYNTHÈSE DES HORMONES THYROÏDIENNES ET LEUR SÉCRÉTION :.....	11
3.2 TRANSPORT ET MÉTABOLISME DES HORMONES THYROÏDIENNES :	14
3.2.1 LA LIAISON DES PROTÉINES :.....	14
3.2.2 LES FLUCTUATIONS DE LA DESIODATION :.....	15
4. RÉGULATION THYROÏDIENNE	16
4.1 CONTRÔLE CENTRAL :	16
4.2 CONTRÔLE HYPOPHYSAIRE :	16
4.3 RÉTROCONTRÔLE PAR LES HORMONES THYROÏDIENNES :.....	17
4.4 AUTRES VOIES DE RÉGULATION	18
4.4.1 IODE :.....	18
4.4.2 AUTRES FACTEURS :	19
5. RÔLE DE LA THYROÏDE	19
5.1 EFFET MÉTABOLIQUE :	19
5.2 EFFETS PERMISSIFS :.....	20

5.3	CROISSANCE ET DÉVELOPPEMENT :	21
5.4	AUTRES EFFETS :	21
CHAPITRE II : DONNÉES DE BIOLOGIE MOLÉCULAIRE		22
1.	TSH	22
1.1	DONNÉES MÉTABOLIQUES	22
1.2	DOSAGE DE LA TSH	24
1.3	UTILITÉ DU DOSAGE DE LA TSH :	25
2.	FT4 ET FT3	26
2.1	DONNÉES MÉTABOLIQUES	26
2.2	DOSAGE DES HORMONES THYROÏDIENNES (HT) :	28
2.3	UTILITÉ DU DOSAGE DES HT :	29
3.	ANTICORPS ANTITHYROPEROXYDASE	30
3.1	DONNÉES MÉTABOLIQUES	30
3.2	DOSAGE DES ANTICORPS ANTI-TPO	31
3.3	UTILITÉ DU DOSAGE DES TPOAb :	31
4.	ANTICORPS ANTITHYROGLOBULINE	32
4.1	DONNÉES MÉTABOLIQUES	32
4.2	DOSAGE DES TgAb :	33
4.3	UTILITÉ DU DOSAGE DES TgAb :	34
CHAPITRE III : PATHOLOGIE THYROÏDIENNE		35
1.	HYPERTHYROÏDIE :	35
1.1	PATHOLOGIE AUTO-IMMUNE :	36
1.2	LES NODULES HYPERSECRETANTS :	38
1.3	LE GOITRE MULTINODULAIRE TOXIQUE	38
1.4	L'ADÉNOME TOXIQUE	38
1.5	LES HYPERTHYROÏDIES IATROGENES :	38
1.6	LA THYROÏDITE SUBAIGUË DE QUERVAIN	39
1.7	LA THYROTOXICOSE GESTATIONNELLE TRANSITOIRE	39
1.8	CAUSES RARES	40
2.	HYPOTHYROÏDIE :	40
2.1	PATHOLOGIE AUTO-IMMUNE :	42

2.2	CARENCE IODÉE :	43
2.3	ORIGINES IATROGÈNES :	43
2.4	THYROÏDITE SUBAIGUË DE DE QUERVAIN.....	44
2.5	CAUSES PLUS RARES :	44
2.6	INSUFFISANCE THYRÉOTROPE :	45
CHAPITRE IV : RADIOIMMUNODOSAGE		46
1.	DÉFINITION	46
2.	PRINCIPES GÉNÉRAUX DES MÉTHODES DE DOSAGE.....	47
2.1	MÉTHODES DE DOSAGE PAR DÉFAUT D'ANTICORPS :	47
2.1.1	AVANTAGES DES MÉTHODES DE DOSAGE PAR DÉFAUT D'ANTICORPS	49
2.1.2	INCONVÉNIENTS DES MÉTHODES DE DOSAGE PAR DÉFAUT D'ANTICORPS	49
2.2	MÉTHODE DE DOSAGE PAR EXCÈS D'ANTICORPS :	49
2.2.1	AVANTAGES DES MÉTHODES DE DOSAGE PAR EXCÈS D'ANTICORPS :.....	51
2.2.2	INCONVÉNIENTS DES MÉTHODES DE DOSAGE PAR EXCÈS D'ANTICORPS :	51
3.	NOTIONS SUR LE MARQUEUR RADIOACTIF :	53
3.1	CHOIX DU RADIO-ISOTOPE :	53
3.2	MÉTHODE DE MARQUAGE :	54
3.3	MESURE DU SIGNAL RADIOACTIF :	55
PARTIE II : PRATIQUE		58
1.	OBJECTIF :	59
2.	PROTOCOLE :	59
2.1	MATÉRIELS ET MÉTHODES	59
2.1.1	TYPE D'ÉTUDE :	59
2.1.2	POPULATION ÉTUDIÉE :	59
2.1.3	NOMBRE D'INDIVIDUS NÉCESSAIRES POUR L'ÉTUDE :	59
2.1.4	DURÉE DE L'ÉTUDE :	60
2.1.5	MÉTHODE D'ÉCHANTILLONNAGE :	60
2.2	DÉROULEMENT DE L'ÉTUDE :	60
2.3	ÉTUDE STEP-ONE :	68
2.3.1	CRITÈRES D'INCLUSION :	68
2.3.2	CRITÈRES DE NON-INCLUSION :	68

2.3.3	CRITÈRES D'EXCLUSION :	68
2.4	ÉTUDE STEP TWO:	68
2.4.1	CRITÈRES D'INCLUSION	68
2.4.2	CRITÈRE DE NON-INCLUSION :	69
2.4.3	CRITÈRES D'EXCLUSION :	69
3.	RECUEIL DES DONNÉES ET ANALYSE STATISTIQUE :	69
4.	RÉSULTATS :	70
4.1	CARACTÉRISTIQUE ANTHROPOMÉTRIQUE POUR STEP ONE	70
4.1.1	NOMBRE	70
4.1.1	AGE	70
4.1.2	POIDS-TAILLE	71
4.1.3	RÉPARTITION SELON LES WILAYAS :	71
4.2	STATISTIQUE DESCRIPTIVE DES PARAMÈTRES ÉTUDIÉS	72
4.2.1	TSH	72
4.2.2	TPOAb	73
4.2.3	TgAb	73
4.2.4	CORRÉLATION TSH-TPOAb	74
4.2.5	CORRÉLATION TSH-TgAb	74
4.2.6	CORRÉLATION TPOAb-TgAb	75
4.3	CARACTÉRISTIQUE ANTHROPOMÉTRIQUE POUR STEP TWO	75
4.3.1	NOMBRE	75
4.3.2	AGE	76
4.3.3	POIDS-TAILLE	76
4.3.4	RÉPARTITION SELON LES WILAYAS :	76
4.4	STATISTIQUE DESCRIPTIVE DES PARAMÈTRES ÉTUDIÉS	77
4.4.1	TSH	77
4.4.2	FT4	78
4.4.3	FT3	79
4.4.4	TPOAb- TgAb	80
4.4.5	CORRÉLATION TSH – FT4	80
4.4.6	CORRÉLATION TSH – FT3	81

4.4.7	CORRÉLATION FT4 – FT3	81
4.5	PRÉSENTATION DES RÉSULTATS DE CALCUL :	81
4.5.1	CALCUL DES VALEURS SEUILS POUR STEP ONE :	81
4.5.2	CALCUL DES INTERVALLES POUR STEP TWO :	82
5.	DISCUSSION :	83
5.1	CHOIX DE L'ÉTUDE :	83
5.2	CHOIX DE LA MÉTHODE D'ÉCHANTILLONNAGE :	83
5.3	CHOIX DE LA MÉTHODE DE CALCUL STATISTIQUE :	85
5.4	DISCUSSION DES RÉSULTATS :	86
6.	CONCLUSION :	92
	TERMINOLOGIE	94
	BIBLIOGRAPHIE	95
	ANNEXE	109
	RÉSUMÉS	110

LISTE DES FIGURES

Figure 1 Anatomie de la thyroïde. Vue antérieure	4
Figure 2 Histologie de la thyroïde et agrandissement sur le follicule thyroïdien.....	7
Figure 3. Différentes structures des hormones thyroïdiennes	9
Figure 4. Cycle de l'iode	10
Figure 5. Différentes étapes du métabolisme de l'iode dans le thyrocyte	13
Figure 6. Contrôle de sécrétion des hormones thyroïdiennes.....	17
Figure 7. TSH : Aspect structural.....	22
Figure 8. Schéma réactionnel d'une méthode de dosage par défaut d'anticorps.....	47
Figure 9. Principe d'un dosage par défaut d'anticorps.....	48
Figure 10. Courbe d'étalonnage au cours d'un dosage par défaut d'anticorps	48
Figure 11. Schéma de principe de la méthode Sandwich	50
Figure 12. Courbe d'étalonnage d'un dosage type sandwich.....	51
Figure 13. Représentation schématique de l'effet crochet	52
Figure 14. Représentation schématique de l'œstradiol et d'un analogue marqué à l'iode ¹²⁵	54
Figure 15. Boîte à moustache de la répartition des TPOAb	70
Figure 16. Boîte à moustache de la répartition des âges.	71
Figure 17. Provenance des sujets	72
Figure 18. Boîte à moustache de la distribution de la TSH.....	72
Figure 19. Comparaison à une loi normale pour les TPOAb	73
Figure 20. Comparaison à une loi normale pour les TgAb.	74
Figure 21. Répartition de l'échantillon selon le sexe	75
Figure 22. Répartition géographique des sujets	77
Figure 23. Étude de la distribution de la TSH.....	78
Figure 24. Étude de la distribution de la FT4.....	79
Figure 25. Étude de la distribution de la FT3.....	80
Figure 26. Organigramme sur le concept de valeurs de référence.	94

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I. Compratif des transporteurs des hormones thyroïdiennes	14
Tableau II : caractéristiques des marqueurs radioactifs utilisés en RID.....	54
Tableau III. Mode opératoire de dosage de la TSH.....	62
Tableau IV. Mode opératoire du dosage de la TgAb	63
Tableau V. Mode opératoire de dosage des TPOAb	64
Tableau VI. Mode opératoire dosage de la FT4	65
Tableau VII. Mode opératoire de dosage de la FT3.....	65
Tableau IX. Étude de la distribution par âge.....	70
Tableau X. Paramètre de distribution des sujets selon le poids.....	71
Tableau XI. Paramètre de distribution des sujets selon la taille.....	71
Tableau XII. Paramètres de distribution statistique de la TSH.	73
Tableau XIII. Paramètres de distribution pour les TPOAb	73
Tableau XIV. Paramètres de distribution pour les TgAb	74
Tableau XV. Corrélation entre TSH et TPOAb.	74
Tableau XVI. Corrélation entre TSH et TgAb	75
Tableau XVII. Corrélation entre TPOAb et TgAb.....	75
Tableau XVIII. Étude de la distribution par âge	76
Tableau XIX. Paramètre de distribution des sujets selon le poids	76
Tableau XX. Paramètre de distribution des sujets selon la taille	76
Tableau XXI. Paramètres de distribution statistique de la TSH.....	77
Tableau XXII. Paramètres de distribution statistique de la FT4.	78
Tableau XXIII. Paramètres de distribution statistique de la FT3.....	79
Tableau XXIV. Paramètres de distribution statistique des TPOAb	80
Tableau XXV. Paramètres de distribution statistique des TgAb.....	80
Tableau XXVI. Corrélation entre Log TSH et FT4.	81
Tableau XXVII. Corrélation Log TSH et FT3	81
Tableau XXVIII. Corrélation entre la FT4 et la FT3	81
Tableau XXIX. Résultats des dosages de TPOAb et TgAb.	81
Tableau XXX. Intervalles de référence de la TSH.....	82
Tableau XXXI. Intervalle de référence pour la FT4 et la FT3.....	82
Tableau XXXII. Intervalles de référence pour la TSH.....	86
Tableau XXXIII. Principales études sur les intervalles de références.	86
Tableau XXXIV. Intervalles de référence pour la FT4.....	90
Tableau XXXV. Intervalles de référence pour la FT3	90
Tableau XXXVI. Résultats finaux de l'étude.....	93

TABLE DES ABRÉVIATIONS, ACRONYMES ET SIGLES

Aa	Acide Aminé
AACE	American Association of Clinical Endocrinologists
Ac	Anticorps
Ac	Anticorps
Ag	Antigène
Ag*	Antigène marqué
Ag-Ac	Antigène anticorps liés
AMA	Anticorps antimicrosomes
Anti-Tg	Anti thyroglobuline
Anti-TPO	Anti peroxydase
ATA	American Thyroid Association
CDT	Cancer différencié de la thyroïde
CLSI	Clinical & Laboratory Standards Institute
Co	Cobalt
CPM	Coups par minute
CRP	Protéine C reactive
DIT	Diiodotyrosine
ECL	Electrochimiluminescence
EDTA	Éthylène Diamine Tetra-acétique-Acid
EHU	Établissement hospitalo-universitaire
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay
FSH	Hormone folliculotrope
FT3	Triiodothyronine libre
FT4	Thyroxine libre
HAMA	Human antimouse antibodies
hCG/HCG	Hormone chorionique
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
HT	Hormone thyroïdienne
IC	Intervalle de confiance
IEMA	dosage immunoenzymatique
IFCC	International Federation of Clinical Chemistry
IFMA	dosage immunofluorométrique
IgG	Immunoglobuline G
IR	Intervalle de référence
IRMA	Immunoradiometric assay
IRP	Instance representative of parameter
Kd	Kilodalton
LEC	Liquide extracellulaire
LH	Hormone lutéotrope

LT4	Thyroxine libre (médicament)
MIT	Monoiodotyrosine
MTAI	Maladie thyroïdienne auto-immune
MTAI / AITD	Maladies Thyroïdienne Auto Immune
MGG	May-Gründwald-Giemsa
NACB	National Academy of Clinical Biochemistry
NaI (TI)	Iodure de sodium activé au thallium
ND	Non Disponible
NIS / SNI	Symporteur iode Sodium
NP	Non pertinent
NPV	Noyau para ventriculaire
NTI	Non Thyroidal Illness
ORL	Oto-Rhino-Laryngologie
OMS	Organisation mondiale de la santé
PM	Photomultiplicateur
PM	Photomultiplicateur
RE	Réticulum endoplasmique
RI	Intervalle de référence
RIA	Dosage par défaut d'anticorps
RID	Radioimmunos dosage
RMP	Reference Model Parameter
Rpm	Round per minute
rT3	T3 reverse
SD	Déviat ion standard
T3	Triiodothyronine
T4	Thyroxine
TBG	Thyroid binding globulin
TETRAC	tetraiodo-acetic-acid
Tg	Thyroglobuline
TgAb	Anticorps antithyroglobuline
TPO	Thyroperoxydase
TPOAb	Anticorps antiperoxydase
TRAb / TSI	Anticorps antithyrotropine
TRH	Thyrotropine releasing hormone
TRIAC	triodo-acetic-acid
TSH	Thyrotropine
TT3	Triiodothyronine totale
TT4	Thyroxine totale
TTR	Transthyréline
WHO	World Health Organization

PARTIE I : THÉORIE

INTRODUCTION GÉNÉRALE

La pathologie thyroïdienne est très fréquente dans le monde (environ 15 %)¹. Elle revêt un aspect clinique très complexe.

Elle constitue un diagnostic de première ligne devant des signes cliniques évocateurs tels que l'amaigrissement ou une prise de poids, une exophtalmie, des palpitations ou des signes morpho fonctionnels comme la présence de nodules thyroïdiens isolés ou multiples. Elle constitue aussi un diagnostic d'élimination devant des signes cliniques mineurs : troubles du transit, frilosité ou bouffées de chaleur.

Devant ces signes cliniques et morphologiques très variés, la conduite à tenir pratique commence toujours par l'exploration biologique de l'hormone hypophysaire TSH (thyrotropine) et des hormones thyroïdiennes (HT) FT4 et FT3 (thyroxine libre et triiodothyronine libre) puis par la recherche d'anticorps antithyroïdiens dans un but étiologique².

Depuis quelques décades, l'avènement de nouvelles techniques d'exploration biologique a permis une importante avancée dans la qualité du diagnostic des maladies thyroïdiennes, grâce à l'immunoanalyse et surtout la radioimmunoanalyse qui reste une méthode d'analyse de référence pour les hormones thyroïdiennes et les anticorps antithyroïdiens³. C'est dans le cadre de la radioimmunoanalyse que s'inscrit ce travail.

Un diagnostic juste nécessite un dosage précis avec des intervalles de référence des paramètres dosés précis et adéquat selon la population étudiée, réalisé avec des réactifs standardisés et des appareils calibrés.

En règle générale, les résultats biologiques ne peuvent être interprétés que par comparaison à des valeurs de référence établies à partir de mesures effectuées sur une population de référence, c'est-à-dire une population d'individus sélectionnés de manière très précise. Ces personnes doivent être en « bonne santé apparente », d'âge, de sexe, de conditions de vie déterminées, d'origine ethnique donnée...donc en fonction de facteurs d'inclusion, d'exclusion et de partition bien définis.

Une difficulté importante réside déjà dans la définition du concept de « bonne santé apparente » qui est une notion relative que l'on évalue par comparaison.

Les résultats obtenus pour une population de référence donnée choisie selon des critères définis montrent une importante dispersion des valeurs biologiques.

L'origine de ces variations est multiple : elle préanalytique ou analytique mais elle est aussi intra-individuelle ou inter-individuelle.

- Variations préanalytiques : états physiologiques du sujet, état de jeûne au moment du prélèvement, poids, âge, sexe, état de grossesse, alimentation, état de repos, stress...
- Variations analytiques : méthode et technique de mesure, utilisation d'étalon non normalisé, interférences immunologiques,

C'est pourquoi, la détermination des intervalles de référence est une obligation pour chaque laboratoire voulant être accrédité pour ses bonnes pratiques⁴.

À travers le monde, plusieurs pays : Royaume uni⁵, France⁶, Italie et Allemagne⁷, Turquie⁸, Norvège⁹, Danemark¹⁰, Émirat arabe uni¹¹, Japon¹², États unis¹³ et autres¹⁴, ont entamé depuis une décennie la recherche des intervalles de référence pour la TSH, FT3 et FT4 dans leurs populations, cela n'a pas été le cas en Algérie.

La NACB (National Academy of Clinical Biochemistry) et l'AACE (American Association of Clinical Endocrinologists) ont émis plusieurs mises à jour pour leurs consensus¹⁵, sur la prise en charge de la thyroïde et sur la réalisation des intervalles de références pour les hormones thyroïdiennes. Ces recommandations sont venues simplifier les procédures préconisées par le groupe de travail de l'IFCC-LM^{16,17} (International Federation on Clinical Chemistry and Laboratory Medicine), procédures qui ne sont pas à la portée de tous les laboratoires.

Malgré l'importance des recommandations mondiales, aucune étude en rapport avec le sujet étudié n'a été effectuée en Algérie.

Il est alors pertinent, voire obligatoire d'ajuster les valeurs de références selon la population algérienne, d'autant plus que les données de la littérature sur l'état actuel de la biologie thyroïdienne en Algérie sont rares, voire inexistantes. C'est l'objectif principal de ce travail.

CHAPITRE I : DONNÉES MORPHOPHYSIOLOGIQUES DE LA THYROÏDE

1. ANATOMIE THYROÏDIENNE

La glande thyroïde est une grande glande endocrine impaire située en position antérieure dans le cou, placée en dessous et dehors du cartilage thyroïde. Elle a une forme de papillon situé à cheval sur la trachée.

Elle est constituée de deux lobes latéraux (qui couvrent les faces antérolatérales de la trachée, le cartilage cricoïde et la partie inférieure du cartilage thyroïde) et d'un isthme qui réunit les deux lobes et qui croise la face antérieure des deuxième et troisième anneaux cartilagineux de la trachée (figure.1).

Placée en profondeur par rapport aux muscles sterno-hyoïdien, sterno-thyroïdien et omohyoïdien. La glande thyroïde appartient au compartiment viscéral du cou. Ce compartiment comprend aussi le pharynx, la trachée et l'œsophage, et est entouré par les lames prétrachéales du fascia.

Cette glande est formée à partir d'ébauches pharyngiennes qui vont migrer en direction caudale jusqu'à leur position finale où leur développement va se poursuivre.

La glande thyroïde provient d'une ébauche embryonnaire médiane située dans le plancher du pharynx au contact de la base de la langue. Le foramen cæcum de la langue indique le site d'origine, et le canal thyroïdienne marque la trace de la migration de la glande thyroïde jusqu'à sa localisation finale chez l'adulte. Le canal thyroïdienne disparaît habituellement tôt dans le développement, mais des vestiges peuvent persister sous la forme de kyste ou de connexion avec le foramen cæcum.

Ces reliquats embryonnaires de la glande thyroïde peuvent aussi persister et constituer des glandes fonctionnelles dans la langue (thyroïde linguale), à n'importe quel niveau, le long du trajet de migration de la glande thyroïde ou à la partie supérieure de la glande le long du canal thyroïdienne (lobe pyramidal).

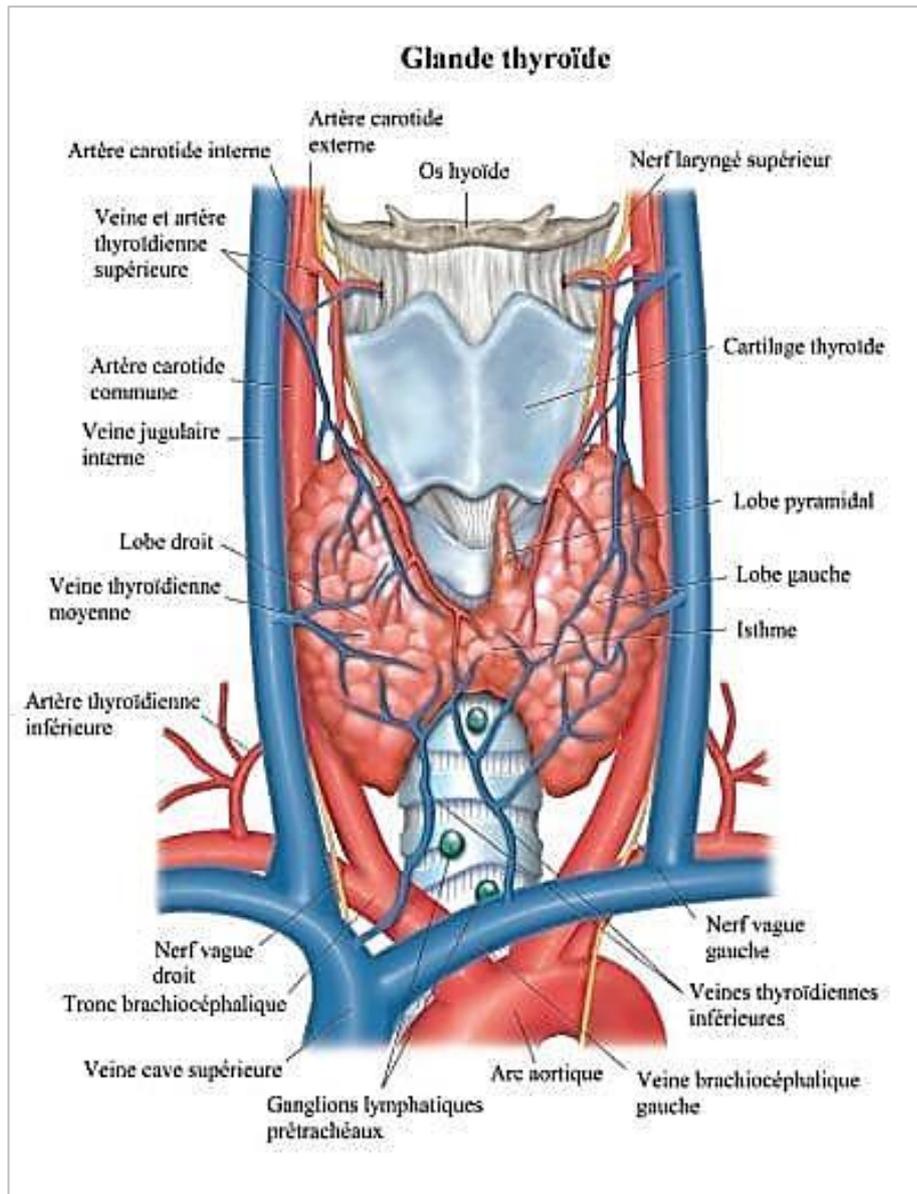


Figure 1 Anatomie de la thyroïde. Vue antérieure (NETTER et MACHADO, 2006)

1.1 VASCULARISATION ARTÉRIELLE :

Deux artères importantes vascularisent la glande thyroïde.

1.1.1 ARTÈRE THYROÏDIENNE SUPÉRIEURE :

C'est la première branche de l'artère carotide externe. Elle descend, chemine le long du bord latéral du muscle thyro-hyoïdien, pour gagner le pôle supérieur du lobe latéral de la glande, où elle se divise en branches glandulaires antérieure et postérieure.

La branche glandulaire antérieure irrigue le bord supérieur de la glande thyroïde et s'anastomose avec son homologue opposée au niveau de l'isthme.

La branche glandulaire postérieure chemine à la face postérieure de la glande et peut s'anastomoser avec l'artère thyroïdienne inférieure.

1.1.2 ARTÈRE THYROÏDIENNE INFÉRIEURE :

C'est une branche du tronc thyrocervical, qui provient de la première portion de l'artère subclavière. Elle monte le long du bord interne du muscle scalène antérieur, passe en arrière de la gaine carotidienne, et gagne le pôle inférieur du lobe latéral de la glande thyroïde.

Au niveau de la glande thyroïde, l'artère thyroïde inférieure se divise en :

- Une branche inférieure, qui vascularise la partie inférieure de la glande thyroïde et s'anastomose avec la branche postérieure de l'artère thyroïdienne supérieure.
- Une branche ascendante qui vascularise les glandes parathyroïdes.

1.1.3 ARTÈRE THYROÏDIENNE IMA :

Petite artère inconstante qui naît du tronc brachiocéphalique ou de l'arc aortique et monte à la face antérieure de la trachée pour vasculariser la glande thyroïde.

1.2 DRAINAGE VEINEUX ET LYMPHATIQUE :

Trois veines drainent la glande thyroïde :

- La veine thyroïdienne supérieure draine principalement le territoire vascularisé par l'artère thyroïdienne supérieure.
- Les veines thyroïdiennes moyenne et inférieure drainent le reste de la glande thyroïde.
- Les veines thyroïdiennes moyenne et supérieure s'abouchent dans la veine jugulaire interne, et les veines thyroïdiennes inférieures dans les veines brachiocéphaliques droite et gauche, respectivement.

Le drainage lymphatique de la glande se fait dans les nœuds situés en regard des faces latérales de la trachée (nœuds paratrachéaux) et dans les nœuds cervicaux profonds sous le muscle omo-hyoïdien le long de la veine jugulaire interne.

1.3 NERFS LARYNGÉS RÉCURRENTS :

La glande thyroïde est intimement au contact des nerfs laryngés récurrents. Après son origine du nerf vague (nerf X) et après avoir fait une boucle autour de l'artère subclavière à droite et de l'arc aortique à gauche, les nerfs laryngés récurrents montent dans un sillon entre la trachée et l'œsophage.

Ils passent en profondeur en arrière de la face postéromédiale des lobes latéraux de la glande thyroïde, et entrent dans le larynx en passant sous le bord inférieur du constricteur inférieur du pharynx.

Avec les branches des artères thyroïdiennes inférieures, les nerfs laryngés sont en rapport avec les ligaments qu'ils peuvent traverser et qui unissent de chaque côté la glande thyroïde à la trachée et au cartilage cricoïde du larynx. Ces rapports doivent être pris en compte lors de la mobilisation ou de l'ablation de la glande thyroïde¹⁸.

2. HISTOLOGIE THYROÏDIENNE

La thyroïde est entourée par une capsule fibreuse à partir de laquelle de fins septas de collagènes s'enfoncent vers l'intérieur de la glande, la divisant en lobules¹⁹. Ces septas sont le riche support d'un riche réseau vasculaire sanguin, de lymphatique et de nerfs.

Les unités structurelles et fonctionnelles spécifiques de la glande thyroïde sont les follicules²⁰; ils ont des tailles variables. Il s'agit de formations fermées, sacculaires entre 50 à 500 µm de diamètres, souvent aux environs de 200 µm. Ces follicules présentent dans les coupes, un contour circulaire.

La paroi du follicule est constituée d'un épithélium cubique simple dont les cellules sont à l'origine des hormones thyroïdiennes contenant de l'iode. La lumière large du follicule contient une case visqueuse, la colloïde faite à base d'une glycoprotéine, la thyroglobuline (Tg).

L'épithélium du follicule est recouvert à l'extérieur par une membrane basale. Un réseau dense de capillaires sanguins fenêtrés entouré de follicules thyroïdiens. Souvent, les capillaires refoulent l'épithélium et des capillaires lymphatiques s'observent de manière fréquente aussi au voisinage des follicules. Comme les capillaires sanguins, ils se trouvent dans des fins septas de tissu conjonctif, entre les follicules (figure2).

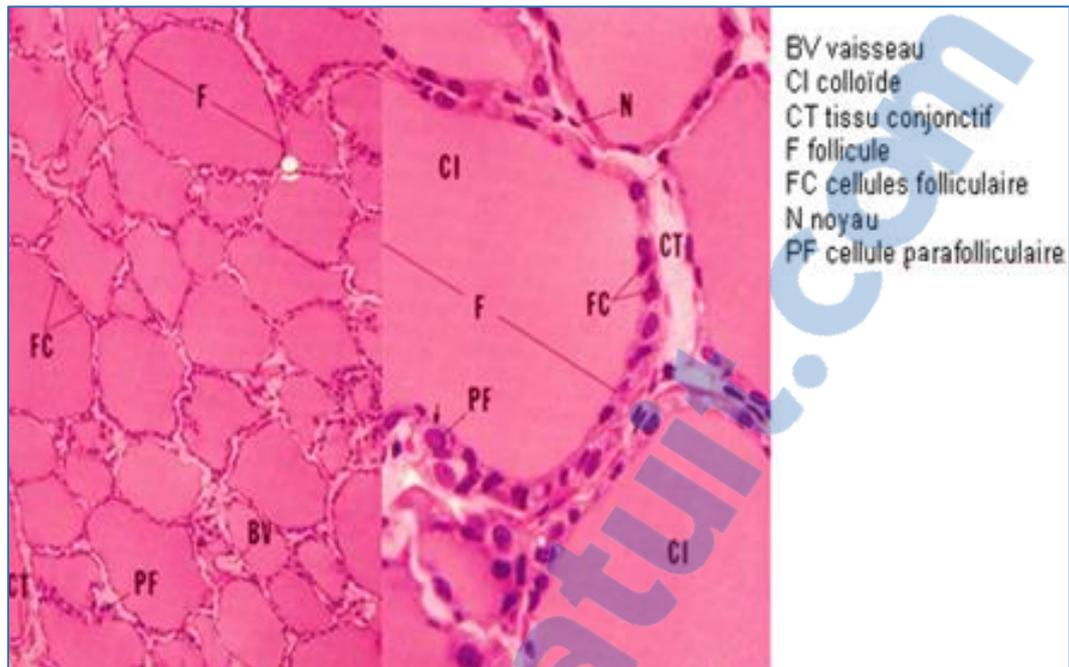


Figure 2 Histologie de la thyroïde et agrandissement sur le follicule thyroïdien ¹⁷

- **Description cellulaire :**

En microscopie optique, après coloration au May-Gründwald-Giemsa (MGG), les cellules épithéliales folliculaires d'une glande thyroïde normale d'un adulte montrent un noyau volumineux, arrondi et euchromatique. Le cytoplasme est souvent basophile du côté basolatéral et en rose clair coté apical.

L'ultrastructure met en évidence des signes d'une intense activité sécrétoire, du côté basolatéral, des citernes bien développées de réticulum endoplasmique (RE) rugueux, parfois à large lumière, un volumineux appareil de Golgi supranucléaire et un nombre considérable de mitochondries.

La membrane cellulaire apicale présente des microvillosités modérément abondantes et quelques kinocils abortifs.

La membrane cellulaire basolatérale présente des interdigitations et des invaginations parsemée de récepteurs à la TSH. Entre deux cellules, du côté apical, il y a une zonule occlusens, une zonule adherens et souvent de volumineux desmosomes.

Dans le cytoplasme apical, de nombreux granules, de tailles différentes et des vésicules sont prépondérants. Parmi les petites vésicules claires, il y a d'une part, celles qui transportent le matériel du RE rugueux vers l'appareil de Golgi d'autres des vésicules vers la lumière du follicule dans la cellule.

Dans une glande active, de volumineuses vésicules contenant les gouttelettes de colloïde, peuvent également pénétrer dans les cellules glandulaires par un processus analogue à la phagocytose.

Parmi les granules denses se trouvent surtout des lysosomes à divers stades fonctionnels. De grosses inclusions avec un contenu hétéromorphe correspondant à des produits de fusion des vésicules d'endocytose apicale ou à des gouttelettes de colloïde et des lysosomes, dans lesquelles l'hormone thyroïdienne active (surtout la FT4) est détachée, de manière enzymatique, de la thyroglobuline.

Un follicule actif se distingue par son épithélium haut et cylindrique de celui du follicule inactif dont l'épithélium est aplati ou cubique.

3. PHYSIOLOGIE THYROÏDIENNE

La glande thyroïde a deux fonctions essentielles. La première consiste à sécréter les hormones thyroïdiennes qui maintiennent le métabolisme dans les tissus au niveau optimal pour leur fonctionnement normal. La seconde est la sécrétion de calcitonine, une hormone qui régule les niveaux circulants du calcium.

3.1 FORMATION ET SÉCRÉTION DES HORMONES THYROÏDIENNES

3.1.1 LES ASPECTS CHIMIQUES :

Les principales hormones sécrétées par la thyroïde sont la thyroxine ou tetraiodothyronine (T4) et en moindre quantité, la triiodothyronine (T3) qui sont des acides aminés (dits tyrosines) contenant de l'iode (figure.3).

La T3 a une activité biologique nettement supérieure à celle de la T4 et elle est spécifiquement créée au niveau de son site d'action dans les tissus périphériques grâce à une désiodation de la T4. On trouve aussi de faibles quantités de triiodothyronine (3,3', 5'-triiodothyronine, rT3) et d'autres composés dans le sang veineux de la thyroïde. La rT3 n'est pas biologiquement active.

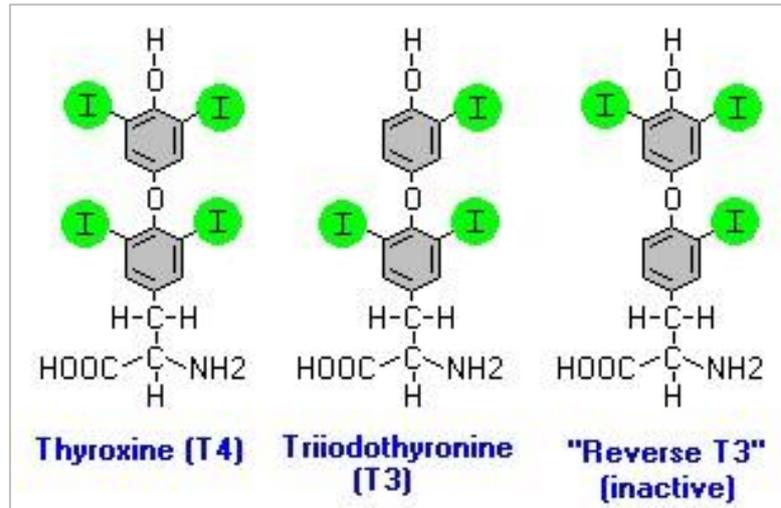


Figure 3. Différentes structures des hormones thyroïdiennes (image Wikipédia)

3.1.2 L'HOMÉOSTASIE DE L'IODE :

La physiologie de la thyroïde est intimement liée au métabolisme de l'iode dans le thyrocyte²¹. L'iode est un composé essentiel pour la synthèse des hormones thyroïdiennes. L'iode alimentaire est absorbé par l'intestin et pénètre dans la circulation. L'apport minimal en iode qui permet de maintenir un niveau normal d'activité thyroïdienne chez l'adulte est de 150 µg/jour²².

Dans la plupart des pays développés, une supplémentation en sel de table signifie que l'apport alimentaire moyen en iode est voisin de 500 µg/jour. Les principaux organes fixant l'iode ionisé (I⁻) circulant sont la thyroïde qui l'utilise pour fabriquer des hormones thyroïdiennes et les reins qui l'excrètent dans l'urine.

Environ 120 µg/jour pénètrent dans la thyroïde aux taux normaux de synthèse et de sécrétion des hormones thyroïdiennes, et sont sécrétés 80 µg/jour sous forme de T3 et T4 alors que 40 µg/jour diffusent et retournent dans le liquide extracellulaire (LEC).

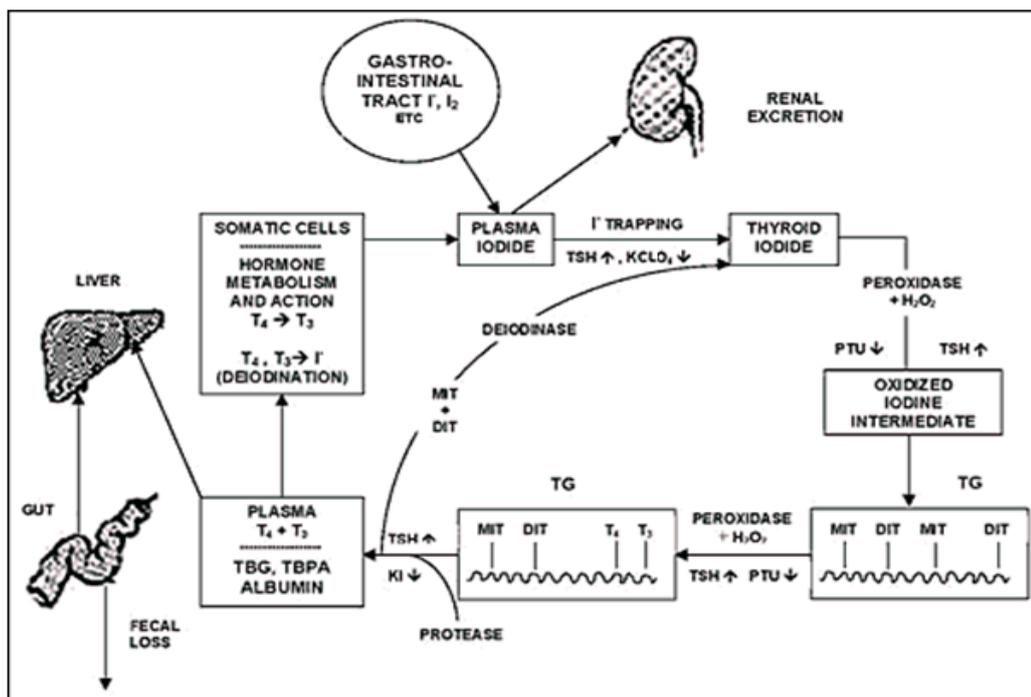


Figure 4. Cycle de l'iode²³

Les hormones circulantes T₃ et T₄ sont métabolisées dans le foie et d'autres tissus et plus de 60 µg d'I⁻ par jour sont libérés dans le liquide extracellulaire (LEC). Certains dérivés des hormones thyroïdiennes sont excrétés dans la bile et une partie de l'iode qu'ils contiennent est réabsorbée (circulation entérohépatique), mais il y'a une perte nette d'I⁻ dans les fèces d'environ 20 µg/jour.

La quantité totale d'I⁻ qui entre dans le LEC est de 600 µg/jour. Vingt pour cent de cette quantité entrent dans la thyroïde, et 80 % sont excrétés dans les urines.

- Le transport d'iodure à travers les thyrocytes :

Les membranes latérobasales des thyrocytes qui font face aux capillaires contiennent un symporteur qui transport deux ions Na⁺ et un ion I⁻ dans la cellule à chaque cycle, contre le gradient électrochimique de l'I⁻.

Ce symporteur Na⁺/I⁻ (SNI ou NIS) est capable de produire des concentrations intracellulaires d'I⁻ 20 à 40 fois plus élevées que dans le plasma.

Le processus mis en jeu est un processus actif secondaire, dont l'énergie provient du transport du Na⁺ hors des cellules thyroïdiennes par la pompe Na⁺/K⁺ ATPase²⁴. Le SNI est régulé à la fois par la transcription et par un trafic actif dans et hors la membrane latérobasale

des thyrocytes. L'hormone thyroïdienne (TSH) induit à la fois l'expression et la rétention du SNI, où il peut favoriser une capture soutenue d'iode²⁵.

L'iodure doit aussi sortir des thyrocytes à travers la membrane apicale pour accéder au colloïde, dans lequel les étapes initiales de la synthèse des hormones thyroïdiennes ont lieu.

Cette étape du transport semble avoir comme intermédiaire, au moins en partie, un échangeur Cl⁻/I⁻ appelé pendrine²⁶. Cette protéine a d'abord été identifiée comme étant le produit du gène responsable du syndrome de PENDRED, dont les personnes atteintes souffrent de dysfonctionnement thyroïdien et de surdité. La pendrine (SCL26A4) est un membre d'une famille plus importante d'échangeurs anioniques SLC26.

La relation entre la fonction thyroïdienne et l'iodure est unique. L'iodure est essentiel pour une activité thyroïdienne normale, mais une déficience ou un excès d'iode inhibe tous deux l'activité de la thyroïde.

3.1.3 SYNTHÈSE DES HORMONES THYROÏDIENNES ET LEUR SÉCRÉTION :

À l'interface entre le thyrocyte et le colloïde, l'iodure subit une organification. Tout d'abord, il est oxydé en iode puis incorporé au niveau du carbone 3 des résidus tyrosines qui appartiennent à la molécule de thyroglobuline dans le colloïde.

La thyroglobuline est une glycoprotéine constituée de deux sous unités, dont la masse moléculaire totale est 660 kD. Dix pour cent de sa masse sont des glucides. Elle contient aussi 123 résidus tyrosine, mais seulement 4 à 8 d'entre eux sont normalement incorporés dans les hormones thyroïdiennes.

La thyroglobuline (Tg) est synthétisée dans les cellules thyroïdiennes et sécrétée dans le colloïde par l'exocytose des granules²⁷.

L'oxydation et la réaction de l'iodure avec la thyroglobuline sécrétée ont pour intermédiaire la thyroïde peroxydase (TPO), une enzyme liée à la membrane présente sur la membrane apicale des thyrocytes.

Les hormones thyroïdiennes ainsi produites demeurent liées à la molécule de thyroglobuline jusqu'à ce qu'elles soient nécessaires.

Pour cette raison, la colloïde représente un réservoir d'hormones thyroïdiennes et les humains peuvent intégrer des aliments complètement dépourvus d'iode pendant deux mois avant qu'un déclin des concentrations d'hormones thyroïdiennes circulantes soit patent.

En cas de besoins de sécrétion d'hormones thyroïdiennes, la colloïde est internalisée par endocytose par les thyrocytes et dirigé vers les lysosomes pour y être dégradée. Les liaisons peptidiques de la Tg sont alors hydrolysées et la T4 et la T3 libres sont déchargées dans le cytosol puis dans les capillaires.

Les thyrocytes ont donc plusieurs fonctions : ils collectent et transportent l'iode, ils synthétisent la Tg, et la sécrètent dans le colloïde, ils fixent l'iode à la Tg pour créer des hormones thyroïdiennes (HT) et ils retirent les HT de la thyroglobuline et les sécrètent dans la circulation.

La synthèse des HT est un processus comportant de multiples étapes (figure.5). La thyroïde peroxydase produit des espèces réactives d'iode capables d'attaquer la thyroglobuline.

Le premier produit est la monoiodotyrosine (MIT). La MIT est ensuite iodée sur le carbone 5 pour former la diiodotyrosine (DIT).

Deux molécules de DIT subissent ensuite une condensation oxydative pour former la T4 avec l'élimination de la chaîne latérale de l'alanine à partir de la molécule qui forme l'anneau extérieur.

Il existe deux théories pour expliquer le déroulement de cette réaction de couplage. L'une soutient que le couplage se produit pendant que les deux molécules de DIT sont fixées à la thyroglobuline (couplage intramoléculaire). Selon l'autre, la DIT qui forme l'anneau extérieur doit d'abord se détacher de la Tg (couplage intermoléculaire). Dans les deux cas, la TPO est impliquée dans le couplage ainsi que dans l'iodation.

3.2 TRANSPORT ET MÉTABOLISME DES HORMONES THYROÏDIENNES :

3.2.1 LA LIAISON DES PROTÉINES :

La T3 et la T4 sont relativement lipophiles et se trouvent dans le plasma sous forme libre ou liée. Les formes libres dans le plasma sont en équilibre avec une réserve (pool) bien plus importante d'HT liées à des protéines dans le plasma et dans les tissus. Les HT libres sont ajoutées au pool circulant par la thyroïde et c'est ces dernières qui sont physiologiquement actives et qui inhibent rétroactivement la sécrétion de la TSH par l'hypophyse. Les hormones liées sont mobilisées en cas de nécessité.

Les protéines plasmatiques qui fixent les HT sont l'albumine, la préalbumine appelée transthyrétine (TTR) et une globuline appelée globuline fixant la thyroxine (TBG). De ces trois protéines, l'albumine a la plus grande capacité de liaison avec la T4, tandis que la TBG et celle qui a la plus faible capacité²⁸.

Tableau I. Comparatif des transporteurs des hormones thyroïdiennes

TBG	TTR (TBPA)	Albumine
<ul style="list-style-type: none"> • PM = 36000 Da • [TBG] = 10 mg/mL de sérum 	<ul style="list-style-type: none"> • PM = 57000 Da • [TTR] = 280 mg/mL de sérum 	<ul style="list-style-type: none"> • PM = 66000 Da • [ALB] = 40000 mg/mL de sérum
<p>La moins abondante Spécificité ++ Affinité ++ (T₄ > T₃)</p>	<p>Capacité liaison 10x >TBG Affinité beaucoup plus faible</p>	<p>La plus abondante Faible spécificité</p>
<p>Liaison HT = 75% ± 3%</p>	<p>Liaison HT = 19 ± 4%</p>	<p>Liaison HT = 6 ± 2%</p>

La T3 est plus faiblement liée que la T4 ; sur le pool normalement présent dans le plasma, 0,2 % sont libres et 99,8 % restants sont liés à des protéines, 46 % à la TBG et la plus grande partie du reste avec l'albumine et une faible quantité à la TTR.

Le fait que la T3 soit plus faiblement liée aux protéines que la T4 est en rapport avec sa demi-vie plus courte et à son action plus rapide sur les tissus. La rT3 se fixe aussi à la TBG.

- Les fluctuations de la liaison :

Lorsqu'il y'a augmentation brusque et soutenue de la concentration plasmatique des

protéines qui fixent les HT, la concentration des HT libres chute. Ce changement est toutefois temporaire, parce que la chute de la concentration des HT libres dans la circulation stimule la sécrétion de la TSH, qui provoque à son tour une augmentation de la production d'HT libres.

Un nouvel équilibre est finalement atteint, dans lequel la quantité totale d'HT dans le sang est élevée, alors que la concentration d'HT libres et le taux de TSH sont normaux.

Inversement, une baisse de la concentration des protéines fixant les HT, entraînent les mêmes changements, mais en sens inverse.

Par conséquent, les patients présentant des concentrations de protéines fixant les HT augmentées ou diminuées, notamment la TBG, ne sont pas nécessairement ni hyperthyroïdiens ou hypothyroïdiens²⁹.

Les concentrations de TBG peuvent aussi être élevées chez les patients traités par les œstrogènes ou chez des femmes enceintes, ou encore à la suite d'un traitement par des tranquillisants, méthadone et héroïne. Elles sont abaissées par les glucocorticoïdes et les androgènes.

D'autres médicaments tels les salicylates, l'antiépileptique phénytoïne, le mitotane (anticancéreux) et le 5-fluoro-uraciles inhibent la fixation de la T4 et de la T3 à la TBG, provoquant ainsi des changements similaires à ceux produits par la diminution de la TBG. Des changements des concentrations totales de T4 et de T3 peuvent aussi être induits par des modifications des concentrations plasmatiques de l'albumine et de la préalbumine.

3.2.2 LES FLUCTUATIONS DE LA DESIODATION :

Un certain nombre de substances chimiques inhibe les désiodases, provoquant la chute de la T3 plasmatique et une augmentation simultanée de la rT3. Une déficience en sélénium a le même effet³⁰. Autres circonstances annulent l'effet des désiodases : les brûlures, les traumatismes, les cancers à stade avancé, la cirrhose, l'insuffisance rénale, l'infarctus du myocarde et les états fébriles³¹.

L'alimentation a aussi un effet sur la conversion de la T4 en T3. Chez les sujets qui jeûnent, la T3 plasmatique s'abaisse de 10 à 20 % en 24 heures, et d'environ 50 % après 3 à 7 jours³².

4. RÉGULATION THYROÏDIENNE

La régulation des hormones thyroïdiennes dépend surtout de deux facteurs : la TSH hypophysaire et les variations de l'apport iodé (excès ou déficit)³³.

4.1 CONTRÔLE CENTRAL :

Il dépend essentiellement de la stimulation de la thyrotropin releasing hormone (TRH) appelée aussi thyrolibérine hypothalamique³⁴. La TRH est un tripeptide de formule L-pyroglutamyl-L-histidine – prolinamide³⁵. La TRH est localisée dans l'hypothalamus antérieur et surtout dans le noyau para ventriculaire (NPV).

La TRH, arrivant par la circulation porte se fixe sur des récepteurs membranaires des cellules thyrotropes avant d'activer les voies inositol-phosphates et de mobiliser le calcium intracellulaire. Elle stimule la synthèse et la glycosylation de la TSH³⁶.

La régulation de la sécrétion de la TRH est encore mal connue.

Une autre hormone hypothalamique, la somatostatine, diminue la sécrétion de la TSH. Toutefois les données actuelles ne permettent pas de savoir si cette action est physiologique ou pharmacologique.

La dopamine et les glucocorticoïdes inhibent aussi la sécrétion de la TSH, mais l'action stimulante de la TRH est prédominante à celle de ces facteurs inhibiteurs.

4.2 CONTRÔLE HYPOPHYSAIRE :

L'hypophyse secrète la TSH de façon pulsatile dans un rythme circadien et elle est 50 à 100 % plus élevée entre minuit et 4 heures du matin que pendant le reste de la journée³⁷.

La TSH se fixe sur un récepteur transmembranaire couplé aux protéines G, stimulant la production d'AMP cyclique et activant plusieurs kinases.

Les actions de la TSH sont multiples :

- Action trophique, avec augmentation du nombre et de la taille des cellules thyroïdiennes. Des facteurs de croissance produits et agissant localement (IGF-I, interleukines...) ont aussi une action trophique et participent à la formation des goitres en pathologie.

- Activation des étapes de la biosynthèse et de la sécrétion des HT : captage des iodures, synthèse de la Tg, synthèse et action de la thyroperoxydase, étapes enzymatiques de la protéolyse.

La sécrétion de la TSH est régulée par le système nerveux central et les HT (rétrocontrôle).

4.3 RÉTROCONTRÔLE PAR LES HORMONES THYROÏDIENNES :

Les hormones thyroïdiennes agissent à la fois sur l'hypophyse et l'hypothalamus (neurones à TRH) pour moduler la sécrétion de la TSH.

La sécrétion de la TSH est inhibée par l'augmentation des concentrations des T4 et T3, et stimulée par la diminution de ces hormones, permettant ainsi le maintien de la sécrétion des HT dans des limites étroites.

La T4 circulante participe de façon plus importante que la T3 circulante dans ce rétrocontrôle que dans d'autres actions tissulaires. La désiodase de type 2 exprimée dans l'hypothalamus et l'hypophyse est à l'origine de production intracellulaire de T3 à partir de la T4 circulante.

Le phénomène de rétrocontrôle est utilisé en clinique pour le diagnostic de l'hyperthyroïdie (diminution de la TSH plasmatique) et de l'hypothyroïdie (augmentation de la TSH plasmatique). Lors de l'injection de TRH, la réponse thyrotrope est absente dans l'hyperthyroïdie et au contraire explosive et prolongée dans l'hypothyroïdie.

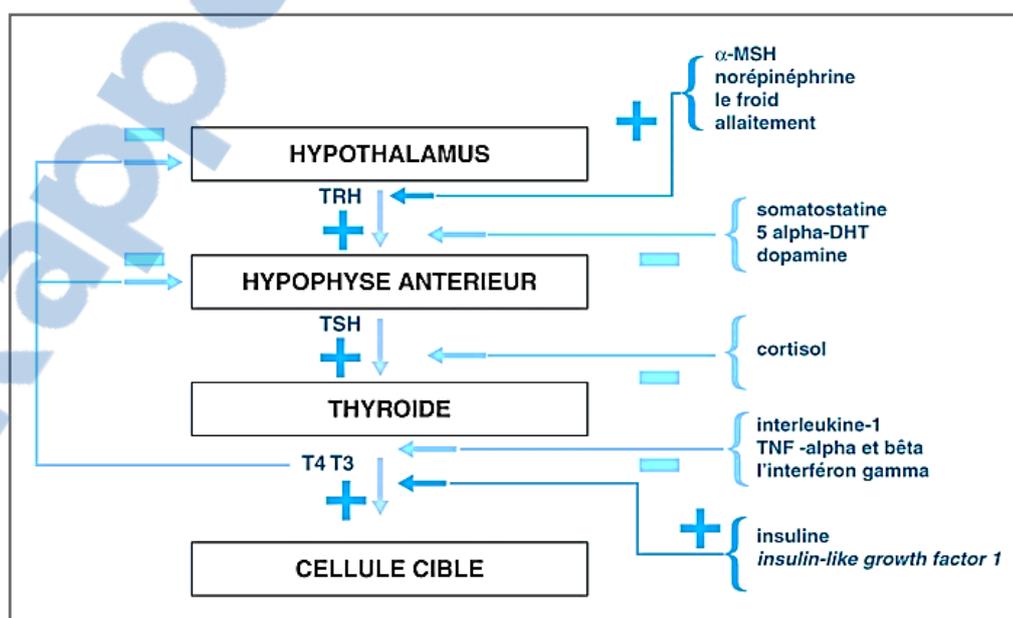


Figure 6. Contrôle de sécrétion des hormones thyroïdiennes³⁸.

4.4 AUTRES VOIES DE RÉGULATION

4.4.1 IODE :

L'importance de l'iode dans les cellules thyroïdiennes est démontrée par les conséquences de l'exposition à une carence ou un excès d'iode. La clairance thyroïdienne d'iodures s'adapte aux fluctuations de l'iodémie par un processus d'autorégulation dépendant du contenu en iode des cellules thyroïdiennes³⁹. La carence iodée expose au risque de la diminution de la sécrétion des HT. L'activité de la glande thyroïde présente alors des modifications dont le but est de maintenir la sécrétion des HT à un niveau normal :

- Augmentation du captage d'iode ;
- Augmentation de l'efficacité de la stimulation des différentes étapes de l'hormonosynthèse thyroïdienne par la TSH ;
- Modification de la synthèse des HT qui est orientée vers la formation et la sécrétion des MIT et de la T3 hormone la plus active et assurant aussi une économie d'iode.

La diminution de production de T4 entraîne une augmentation de la TSH avec hyperplasie de la thyroïde (formation de goitre possible). L'activité de la désiodase de type 2 augmente.

Si la carence iodée est complète, l'hypothyroïdie ne peut être cependant évitée.

Lors d'une surcharge iodée, l'organisme met en place différents mécanismes visant à éviter l'hyperthyroïdie.

- Diminution de la vascularisation thyroïdienne, du captage de l'iode, de la protéolyse de la Tg et de la libération des HT.

Et surtout, diminution de l'organification de l'iode (effet Wolff-Chaikoff)⁴⁰. Ce phénomène autorégulé, indépendant de la TSH, apparaît lorsque l'iodémie est 15 à 20 fois plus élevée que la normale. Après quelques jours, il y a un phénomène d'échappement au blocage de l'organification de l'iode et rétablissement d'une sécrétion normale des HT.

Le phénomène d'échappement n'est pas complètement élucidé ; il semble impliquer une diminution de l'expression de NIS et donc de l'entrée intracellulaire d'iode. Sur une thyroïde antérieurement pathologique, ce phénomène d'échappement peut être absent, induisant une hypothyroïdie.

4.4.2 AUTRES FACTEURS :

De nombreux facteurs de croissance sont plus ou moins spécifiques aux thyrocytes. Dans la plupart des cas, ils agissent par l'intermédiaire de récepteurs membranaires (EGF : Epidermal growth factor, IGF : Insuline growth factor, FGF : Fibroblaste growth factor).

L'hormone gonadotrophine chorionique (HCG) à une action analogue à celle de la TSH par analogie structurale : même sous unité α , sous unité β de structure très proche⁴¹.

La sérotonine et les catécholamines stimulent la thyroïde. L'effet des catécholamines est de type bêta adrénergique. Leur rôle physiologique est connu. Les prostaglandines principalement de la classe E1, abondantes dans la thyroïde, stimule la fonction thyroïdienne en reproduisant in vitro les effets de la TSH, mais ne semblent pas jouer de rôle en physiologie et ont des sites membranaires différents de ceux de la TSH. Les inhibiteurs de prostaglandine (aspirine) ne modifient pas l'activité de la TSH.

Les immunoglobulines stimulant la thyroïde (TSI) sont des facteurs de stimulation anormaux qui interviennent dans certains états pathologiques, d'origine auto-immune⁴². Ce sont des IgG produits par les lymphocytes B.

5. RÔLE DE LA THYROÏDE

On retrouve des récepteurs aux HT dans les noyaux de la plupart des cellules de l'organisme. Ainsi, les effets de la T3 et de la T4 sont très étendus, portant sur de nombreux organes et tissus⁴³.

Les récepteurs nucléaires des HT peuvent lier à la fois T3 et T4, mais avec une affinité très forte à la T3. La plus grande partie de T4 qui pénètre dans les cellules étant désiodée en T3, la plupart des sites de fixation des récepteurs sont occupés par la T3. Comme les hormones stéroïdiennes, les HT agissent avec une induction de la transcription de gènes et de la synthèse protéique.

5.1 EFFET MÉTABOLIQUE :

Les HT ont des effets multiples sur des hydrates de carbone et des lipides, même si leur rôle est moindre que celui d'autres hormones métaboliques, comme l'insuline.

Néanmoins, les HT stimulent l'absorption des hydrates de carbone par l'intestin grêle et majorent la libération des acides gras par les adipocytes.

Ces effets apportent de l'énergie pour maintenir un niveau métabolique élevé et ils concordent avec l'un des principaux effets des HT notamment la T3, qui est l'augmentation de l'activité hydrolytique des Na⁺/K⁺ ATPases dans tout l'organisme.

En fait, pour maintenir sa concentration intracellulaire, l'ATP régule négativement les enzymes glycolytiques dans les cellules. Une baisse des stocks intracellulaires d'ATP déclenche une augmentation de la glycolyse, avec augmentation de la consommation de nutriments pour restaurer la concentration en ATP. Un des produits dérivés de cette réaction est la chaleur. Ainsi quand la consommation d'ATP par les Na⁺/K⁺ ATPases est augmentée sous l'effet d'une activation par les HT, ses stocks intracellulaires doivent être maintenus par augmentation du catabolisme des nutriments.

Cet effet, appelé effet calorigène des HT, représente une part très significative de la production quotidienne totale de chaleur chez le sujet normal. Ce dernier est favorisé par l'action des HT sur la chaîne respiratoire se fait par oxydation du cycle critique dont la conséquence est l'augmentation de consommation d'O₂, l'augmentation de la taille et des nombres des mitochondries⁴⁴.

Un autre effet est perceptible sur les lipides, les HT provoquent une diminution des réserves lipidiques et des taux plasmatiques des triglycérides, phospholipides et cholestérol⁴⁵. L'excès d'HT donne un effet hypocholestérolémiant.

5.2 EFFETS PERMISSIFS :

De nombreuses actions des HT passent par un effet permissif sur les catécholamines. Les HT régulent positivement les récepteurs bêta-adrénergiques dans de nombreux tissus, notamment le cœur et le système nerveux. Il n'y a rien de surprenant à ce que les symptômes d'une concentration excessive des HT ressemblent à ceux d'un excès d'adrénaline et de noradrénaline (système nerveux sympathique).

En effet, l'excès d'HT potentialise les effets des catécholamines, même si ces dernières restent dans la norme. Cet effet de potentialisation explique que les traitements des hyperthyroïdies utilisent souvent des médicaments qui bloquent les récepteurs bêta-adrénergiques, dans le but de soulager, la nervosité et la tachycardie accompagnant une hyperstimulation sympathique.

5.3 CROISSANCE ET DÉVELOPPEMENT :

Les hormones thyroïdiennes sont nécessaires à la production normale de l'hormone de croissance. Ainsi, en leur absence, la croissance est perturbée chez l'enfant. De plus, les HT constituent une des principales hormones du développement du système nerveux. Pendant la vie fœtale, elles exercent de multiples effets sur le développement du système nerveux central, dont la formation de la terminaison des axones et la production des synapses, ainsi que la formation de myéline.

La carence en HT au cours de la vie fœtale fait apparaître un syndrome appelé hypothyroïdie congénitale. Ce syndrome se caractérise par un faible développement du système nerveux et une atteinte sévère de la fonction intellectuelle.

Les effets des HT sur la fonction du système nerveux ne se limitent pas à la période fœtale et néonatale. Elles sont aussi indispensables au bon fonctionnement des réflexes nerveux et musculaires et à la cognition normale chez l'adulte.

5.4 AUTRES EFFETS :

L'augmentation des métabolismes a certains effets secondaires importants. Au niveau du cœur, il y a augmentation du travail cardiaque pour satisfaire aux besoins accrus de l'organisme⁴⁶, avec l'élévation du débit et du rythme cardiaque.

Au niveau du cerveau, il y a hyperexcitabilité et hypersensibilité avec exagération des réflexes, augmentation de la vigilance, tendance aux tremblements des muscles.

Au niveau du tube digestif, il y a accélération des processus de la digestion et du transit.

Les HT augmentent les besoins en vitamines hydrosolubles et liposolubles en exemple la transformation du carotène en vitamine A. Les HT interviennent sur la croissance osseuse et surtout au niveau de l'accroissement en longueur des os longs par action au niveau des cartilages de conjugaison. Par contre, l'action sur l'ossification périostée est peu marquée.

Aussi, les HT agissent sur le comportement sexuel et notamment sur la libido et ont une action trophique au niveau de la peau. L'action des HT iodées au niveau des organes est directement corrélée au tableau clinique lors d'un dysfonctionnement thyroïdien soit par l'apparition des signes d'un hypermétabolisme lors de l'hyperthyroïdie ou exactement l'inverse, un hypométabolisme lors de l'hypothyroïdie.

CHAPITRE II : DONNÉES DE BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

1. TSH

1.1 DONNÉES MÉTABOLIQUES

La TSH appartient à la famille des hormones glycoprotéiques⁴⁷ avec l'hormone lutéotrope (LH), l'hormone folliculotrope (FSH) et l'hormone chorionique (HCG). Ces quatre hormones sont constituées de deux sous-unités associées de façon non covalente, l'association de la sous-unité α et de la sous-unité β étant nécessaire à l'expression de la fonction biologique de l'hormone. Au sein d'une même espèce, la sous-unité α est commune aux quatre hormones glycoprotéiques ; c'est la sous-unité β qui permet de distinguer les hormones et qui leur confère leur spécificité immunologique et biologique.

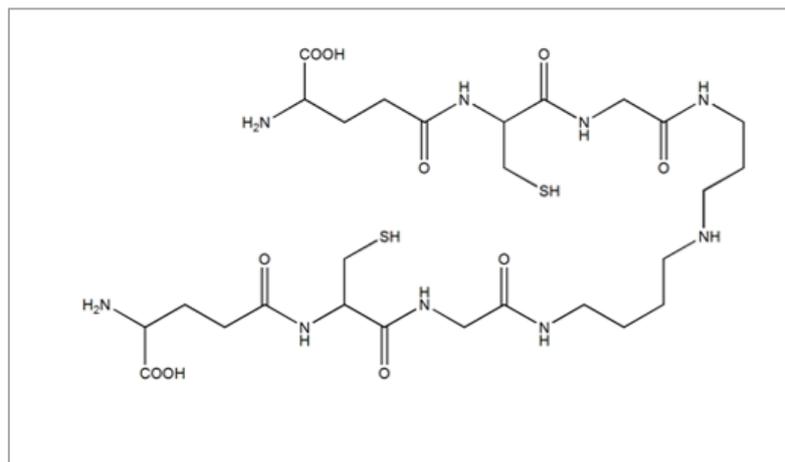


Figure 7. TSH: Aspect structural.(image openclassrooms.com)

Chez l'homme, La TSH humaine présente une masse moléculaire de 28 kD. La sous-unité α libre comporte 92 acides aminés et les sous-unités β de la TSH, LH et FSH sont constituées de 112 acides aminés (aa)⁴⁸. La comparaison entre espèces des séquences en aa de la sous-unité α a montré qu'elles ont été hautement conservées au cours de l'évolution (75 % d'homologie entre chaîne α humaine et chaîne α bovine...). De même les sous-unités présentent en moyenne une homologie de 50 % entre les espèces. Cette conservation laisse à penser que les séquences conservées sont importantes pour l'interaction entre les sous-unités et pour la fonction biologique des hormones.

- **Sécrétion :**

La LH, la FSH et la TSH sont d'origine hypophysaire, alors que la HCG est d'origine placentaire. La synthèse des sous-unités α et β suit la voie classique de synthèse des protéines.

La sous-unité α est synthétisée en excès par les cellules thyrotropes, gonadotropes et placentaires. Cette sous-unité libre est sécrétée dans le sang à des concentrations proches de celles des hormones, alors que la sous-unité β reste le plus souvent indétectable. Ainsi, la synthèse de la sous-unité β constitue l'étape limitante de la synthèse des hormones glycoprotéiques. La demi-vie de la TSH est d'environ 50 minutes.

- **Gène**

Chez l'homme, le gène α commun aux hormones glycoprotéiques est localisé sur le chromosome 6 tandis que le gène β de la TSH est porté par le chromosome 1. Chez l'Homme, Le gène α est constitué de 9,4 kilobases ; il est fait de quatre exons séparés par trois introns dont la taille est différente selon l'espèce, mais dont l'emplacement est conservé. Le gène de la TSH est composé de trois exons séparés par deux introns.

- **Formes moléculaires proches de l'analyte.**

Les sites de N-glycosylation sur la TSH sont localisés en position 52 et 78 pour la sous-unité α , et en position 23 pour la sous-unité β . Les structures glycaniques sont différentes en chacun des sites et sont régulées physiologiquement.

Ainsi, la TSH humaine possède des chaînes biantennées comportant de l'acide sialique en périphérie.

La maturation post-traductionnelle complexe que subit la TSH permet à chaque sous-unité d'acquérir une conformation biologiquement active en même temps qu'elle assure à l'hétérodimère sa stabilité dans les compartiments subcellulaires. Par exemple, l'absence du glycane sur la sous-unité α en Asn 52 entraîne une diminution de l'association α alors que la sécrétion de la sous-unité α libre est maintenue.

De plus, l'absence de la chaîne glycanique en Asn78 augmente la dégradation intracellulaire de la sous-unité α sans bloquer l'association α .

La conséquence de l'hétérogénéité des structures glycaniques est que la TSH, comme les hormones gonadotropes, existe sous de multiples isoformes appelées encore glycoformes. Ainsi, plusieurs isoformes ont été décrites pour la TSH dans toutes les espèces, avec des points isoélectriques pouvant aller de 8,8 à 2,5.

La TSH humaine purifiée à partir d'extraits hypophysaires comprend une dizaine d'isoformes qui varient aussi bien par leurs propriétés immunologiques que biologiques.

En effet, c'est le statut thyroïdien du sujet qui régule la biosynthèse des différentes glycoformes de la TSH, présentant une demi-vie variable et une action variable au niveau de l'organe cible. En particulier, le pic nocturne caractéristique du rythme circadien de la TSH est suivi d'une augmentation de la concentration des hormones libres moindre que celle attendue. Cela suggère que le pic nocturne est constitué de TSH présentant une faible bioactivité.

La sécrétion nocturne de TSH est constituée de formes moins matures, donc moins bioactives. Cette régulation de la glycosylation de la TSH est due au rétrocontrôle par les hormones thyroïdiennes ; ces dernières modulent l'expression des différentes glycosyltransférases, induisant les variations de glycosylation, donc l'activité de la TSH.

1.2 DOSAGE DE LA TSH

Au cours ces cinq dernières décennies, le dosage de la TSH a subi de grandes améliorations qui ont changé la stratégie de prise en charge de l'exploration de la thyroïde, et à ce jour il est fermement établi que le dosage de la TSH est l'examen qui vient en première ligne pour l'évaluation de l'état de la thyroïde. Ceci revient à la grande sensibilité de ce dosage qui permet une bonne distinction entre les hyperthyroïdies et les euthyroïdies⁴⁹. La supériorité du dosage de la TSH provient principalement de la relation physiologique log/linéaire entre la TSH en circulation et de la FT4⁵⁰.

Plusieurs méthodes de dosages ont pu prendre place dans l'historique de la TSH, ce qui a valu à l'immunodosage de la TSH plusieurs dénominations : ceux utilisant l'¹²⁵I sont dites radio-immunodosage, ceux utilisant un signal enzymatique IEMA ; IFMA pour les dosages immunofluorométriques utilisant un signal fluorophore et ECL pour l'électrochimiluminescence⁵¹.

Les dosages de première génération par méthode RIA mis en œuvre en 1960, avaient une limite de détection se rapprochant de 1 mUI/L. une amélioration d'un facteur dix (0.1 mUI/L) a été permise grâce à l'avènement de la méthode IRMA utilisant l'¹²⁵I. Avec ce niveau de sensibilité, arrivant à de très faibles valeurs, l'hyperthyroïdie est facilement diagnostiquée avec un grand degré de confiance sans passer par le test de stimulation à la TRH⁵².

Les dosages de troisième génération ont fait leur apparition dans les années 90 et ont permis une meilleure distinction entre hyperthyroïdie partielle ou totale⁵³.

Depuis, les premiers dosages de la TSH sont désignés comme « sensibles » puis « très sensibles », « ultrasensibles » et enfin « hypersensibles » pour distinguer ces méthodes plus récentes des anciennes méthodes RIA de moindre sensibilité^{54, 55, 56}.

Cette nomenclature, définit chaque génération ayant une différence de dix fois la sensibilité fonctionnelle de sa précédente. Par exemple : la méthode RIA avec une sensibilité de 1 mUI/L était désignés comme « première génération », les immunodosages arrivant à 0,1 mUI/L sont de « deuxième génération » et la troisième génération à 0,1 mUI/L. C'est ces derniers qui sont reconnus comme nécessaires pour satisfaire à la norme actuelle des soins⁵⁷. Dans notre pays, le facteur coût joue en faveur des méthodes RID ultrasensible.

En utilisant la troisième génération, la limite de référence inférieure de la TSH semble se stabiliser en 0,3 et 0,4 mUI/L indépendamment de la population et de la méthode utilisée⁵⁸. En revanche, la limite supérieure de la TSH est toujours actuellement controversée avec un consensus à 4 mUI/L. De multiples facteurs démographiques, influent sur le calcul de la limite de référence supérieure de la TSH : le sexe et l'âge⁵⁹, l'origine ethnique⁶⁰, l'apport en iode⁶¹, l'IMC⁶², le tabagisme⁶³ et la grossesse⁶⁴.

Pour garder une bonne sensibilité du dosage de la TSH pour chaque population, il est explicitement recommandé par la National Academy of Clinical Biochemistry (NACB) et l'American Thyroid Association (ATA), que les intervalles de référence de la TSH soient réalisés pour chaque pays⁶⁵, pour des sujets adultes euthyroïdiens ambulatoire (cette étude) et hospitalisé, pour des femmes enceintes et pour des enfants et nouveau-nés.

Malgré l'extrême hétérogénéité structurale de la TSH, qui a causé autres fois plusieurs discordances dans les dosages de la TSH⁶⁶, les trousse RIA sont actuellement robustes, sensibles et standardisées par l'apparition de nouveau calibrateurs permettant une harmonisation ces tests⁶⁷ faisant au mieux correspondre les mêmes épitopes ciblés dans les différentes trousse de dosage.

1.3 UTILITÉ DU DOSAGE DE LA TSH :

Pour les patients ambulatoires, le dosage de la TSH est recommandé pour détecter les hypo ou les hyperthyroïdies patentes ou frustes pour les patients ayant un statut thyroïdien stable avec axe hypothalamo-hypophysaire intacte⁶⁸.

La concentration de TSH est utilisée pour cibler une valeur de FT4 et/ou pour ajuster un traitement à base de thyroxine⁶⁹, car l'absorption de cette dernière est très influencée par l'ingestion simultanée de nourriture. Une étude récente a montré que les valeurs de la TSH ne fluctuent pas énormément lorsque la LT4 est prise le matin à jeun avant le petit déjeuner⁷⁰.

Le dosage de la TSH est aussi très demandé pour l'ajustement du degré de suppression ou de freinage de la TSH et joue un rôle critique dans la gestion du cancer de la thyroïde⁷¹.

Aussi, il faut comprendre que bien que la TSH soit une hormone hypophysaire, son dosage ne joue pas un rôle important dans la détection de pathologies hypophysaires (hypothyroïdie centrale ou tumeurs hypophysaires sécrétantes de TSH) du fait de la sécrétion inappropriée d'hormone TSH isoformes biologiquement actives et ne pouvant être distinguées de la TSH normale au cours des immunodosages^{72,73}. Paradoxalement, ces isoformes de la TSH peuvent donner à tort des valeurs normales de la TSH contrastant avec des tableaux cliniques d'hypothyroïdie ou d'hyperthyroïdie⁷⁴.

Pour les patients hospitalisés, les NTI altèrent fréquemment le métabolisme périphérique des HT et la fonction hypothalamo-hypophysaire, donnant parfois des valeurs élevées ou basses de la TSH. Cependant, il convient de faire la distinction entre un changement bénin ou transitoire de la valeur de la TSH et un changement profond et persistant de la TSH associée à une dysthyroïdie, par une répétition des dosages.

Le standard utilisé est un extrait de thyroïde WHOhTSH 2d IRP 80/558.

2. FT4 ET FT3

2.1 DONNÉES MÉTABOLIQUES

Les hormones thyroïdiennes T4 et T3 sont produites au niveau de la thyroïde à partir de la tyrosine et de l'iode apporté par l'alimentation. Celles-ci sont produites majoritairement sous forme de T4. La T4 joue le rôle d'une prohormone, relativement peu active, qui est convertie en T3, plus active. La T4 constitue une réserve mobilisable selon les besoins.

La T4 a été isolée par l'américain Kendall en 1910 à partir de trois tonnes de thyroïde de porc, tandis que la T3 a été découverte en 1952 par le français Jean Roche.

La T4 a une masse moléculaire de 776,78 g/mol alors que celle de la T3 est de 650,97 g/mol⁷⁵.

La demi-vie de la T3 dans le sang est de seulement 2,5 jours, à comparer à celle d'environ 6,5 jours de la T4.

Chez l'homme, la production journalière en T4 est de 110 nmol ; 30 à 40 nmol seront transformées en T3 hors de la thyroïde par désiodation. Cela représente environ 80 % de la production de la T3, les 20 % restants venant directement de la thyroïde. La T3 est l'hormone intracellulaire et possède de ce fait un volume de distribution (30 – 40 litres) bien plus important que celui de la T4. Une chute de la production de la T3 peut s'observer en cours du jeûne ou de NTI (non thyroidal illness)^{76,77}.

Les deux hormones libres T4 et T3 ne représentent qu'une infime partie (0,02 et 0,3 % respectivement) de la concentration sérique de ces hormones thyroïdiennes sécrétées ce qui s'explique par un renouvellement (turnover) très rapide des fractions libres et leurs mises en disponibilité rapide près des tissus cibles. La diffusion passive n'est pas toutefois la seule voie de pénétration cellulaire, car un certain nombre d'évidences sont en faveur d'un mode de transport actif comme dans les hépatocytes et les thymocytes qui possèdent des transporteurs spécifiques pour la T3 dépendant de l'énergie⁷⁸.

Environ 90 % de l'hormone thyroïdienne est sécrétée sous forme de T4, qui est désiodée en T3 dans les cellules cibles. Dans les cellules cibles, la T3 est produite par désiodation de la T4 sous l'effet d'une iodothyronine désiodase, la thyroxine 5'-désiodase, dont il existe deux enzymes appartenant aux scléroprotéines qui sont constituées de 250 à 280 acides aminés et dont le site actif contient une sélénocystéine⁷⁹.

- Le type1 (D1), présent dans le foie, les reins, la thyroïde et, dans une moindre mesure, l'hypophyse, son rôle exact dans l'organisme n'est pas entièrement compris ;
- le type2 (D2), présent dans l'hypophyse, le muscle squelettique, le cœur (artères coronaires), le système nerveux central et le tissu adipeux brun, responsable de l'essentiel de la formation de T3 dans la thyroïde, mais capable également de désioder la 3,3', 5'-triiodothyronine, ou T3 inverse, en 3,3'-diiodothyronine, ou T2.

Un troisième type d'iodothyronine désiodase, la thyroxine 5-désiodase(D3), convertit la T4 et la T3 respectivement en rT3 et en T2, qui sont biologiquement inactives, ce qui a pour effet d'inactiver globalement les hormones thyroïdiennes.

De la T3 est également produite dans la thyroïde et sécrétée avec la T4, mais en très faible quantité : environ 5 % synthétisée directement par la TPO sur la thyroglobuline, auxquels

s'ajoutent 5 à 10 % issus de la désiodation de la T4 dans la thyroïde elle-même. Les protéines transporteuses d'hormones thyroïdiennes dans le sang, qui ont notamment pour fonction de permettre leur diffusion à travers l'organisme et d'en accroître la demi-vie, ont une plus grande affinité pour la T4 que pour la T3, de sorte que c'est essentiellement sous forme de T4 que les tissus reçoivent les hormones thyroïdiennes.

Le catabolisme des HT est assez complexe : La T3 est transformée par désiodation en di-iodo-thyronine inactive. La T3 et la T4 sont de plus inactivées par glucuronoconjugaison et sulfatation. La T3 et la T4 sont également métabolisées en TRIAC (triodo-acetic-acid) et TETRAC (tetraiodo-acetic-acid) qui conservent une activité thyromimétique.

La T4 et la T3 peuvent être synthétisées en laboratoire comme médicament, elles sont d'usage courant contre l'hypothyroïdie ou comme traitement à vie en cas de thyroïdectomie surtout pour la LT4 (l-thyroxine). Elles sont prises habituellement une demi-heure avant le petit déjeuner afin d'en maximiser l'absorption par l'intestin. Elles peuvent également être administrées par voie intraveineuse dans les cas d'hypothyroïdies sévères.

2.2 DOSAGE DES HORMONES THYROÏDIENNES (HT) :

Les dosages des HT libres ont totalement supplanté les dosages de la HT totale en raison de l'influence des anomalies des protéines vectrices plasmatiques⁸⁰. De plus se sont les HT libres qui sont responsables de l'activité biologique au niveau cellulaire⁸¹. Il en résulte que les mesures des hormones libres refléteront mieux les effets physiologiques des HT que les concentrations d'hormones totales⁸².

La plupart des techniques de dosage des HT libres utilisent une méthode directe par défaut d'anticorps se fait par compétition vis-à-vis d'un analogue utilisant un Ac spécifique⁸³. L'amélioration récente de ces techniques, respectant l'équilibre des formes libres et liées permet d'atteindre la même qualité que les techniques dites de référence, utilisant une étape de dialyse, mais très coûteuse et utilisée dans les laboratoires spécialisés. Même cette dernière n'est pas à l'abri de problèmes techniques liés à la dilution, l'adsorption et la température^{84,85}.

La méthode directe la plus utilisée actuellement est la méthode d'Ac FT4 et FT3 labellisées marquées, qui est un radioimmunos dosage compétitif qui mesure les hormones libres en fonction de l'occupation partielle des sites de liaison d'hormone-anticorps spécifiques à l'aide d'immuno-adsorbants pour quantifier les sites de liaison d'Ac non occupés dans le mélange réactionnel. Les différences physicochimiques résultant de la liaison

Ac marqués au support solide entraînant des différences cinétiques qui se traduisent par une diminution d'affinité pour d'autres liaisons protéiques endogènes, ce qui produit une mesure d'hormone libre plus fiable⁸⁶.

Pour cela, l'utilisation de l'Ac marqué est devenue la méthode privilégiée pour un certain nombre de plates-formes manuelles ou automatisées d'immunoanalyse.

Au niveau international il n'existe pas d'étalon standard ou de méthode de référence pour le dosage des hormones thyroïdiennes libres⁸⁷.

2.3 UTILITÉ DU DOSAGE DES HT :

Le dosage de la FT4 est indiqué pour confirmer et graduer les dysthyroïdies suspectées en présence de signes évocateurs, avec une valeur de TSH anormale. Le dosage de la FT3 accompagne le dosage de la FT4 qu'il soit normal ou pathologique. Ces dosages sont d'usage courant en raison de leur utilité diagnostique.

Concernant les patients ambulatoires, pour une meilleure précision du diagnostic d'hypothyroïdie ou d'hyperthyroïdie il est pratique de doser la TSH en première ligne. En cas d'anomalies de la TSH, la FT4 et la FT3 viennent en deuxième et troisième ligne respectivement pour l'enquête étiologique⁸⁸.

Le dosage de la FT4 seule est utile pour le réajustement thérapeutique dans le cas d'une insuffisance thyroïdienne et parfois il est demandé lors de l'instauration récente d'un traitement d'hypo ou d'hyperthyroïdie ou après une thyroïdectomie totale⁸⁹, en cas de prise de glucocorticoïdes qui affectent la sécrétion de la TSH⁹⁰ ou en cas de dysfonctionnement hypothalamo-hypophysaire suspectée⁹¹.

Les discordances entre TSH et FT4 mesurées sur le même échantillon peuvent parfois être à l'origine d'un problème diagnostique. De faibles discordances peuvent ne pas être pathologiques⁹².

En cas de grandes discordances TSH /FT4 observées, la première étape est de doser à la fois la TSH et la FT4 en utilisant une trousse d'un autre fabricant. De tels problèmes (pour la FT4) résultent généralement d'une altération dans une protéine de transport des HT⁹³. D'autre part, la cause la plus fréquente d'un résultat faussement élevé de TSH est due à des interférences des Ac humains anti-souris (HAMA) ou des Ac hétérophiles de la TSH^{94,95}.

Concernant les patients hospitalisés, la grande variété de maladies non thyroïdiennes et

des thérapies médicamenteuses sont connues pour altérer la précision d'un dosage d'HT ou aussi de la TSH⁹⁶. Pour cela il n'existe pas actuellement une validation adéquate des dosages des HT en milieu hospitalier et il faut interpréter les résultats avec une grande prudence en fonction du contexte clinique et thérapeutique administrées⁹⁷.

Parce que la fiabilité diagnostique du dosage de la FT4 est discutable chez les patients hospitalisés, il est recommandé de réaliser dans ces cas un dosage concomitant de la T4 (plutôt T4 totale que la FT4) pour évaluer le statut biologique de la thyroïde⁹⁸.

Le dosage à répétition de la TSH peut être particulièrement utile lors de la recherche de la cause d'une valeur anormale de la FT4 ; les valeurs aberrantes se normaliseront en cas de NTI en phase aiguë, et si elles persistent il s'agit là d'un dysfonctionnement thyroïdien sous-jacent⁹⁹.

Aussi le dosage de la FT4 doit être réalisé dans des conditions optimales de température avec des recommandations de faire le dosage à 37 °C au lieu de 25 °C, cette différence de température pourrait faire augmenter les valeurs d'un facteur 1,5¹⁰⁰.

3. ANTICORPS ANTITHYROPEROXYDASE

3.1 DONNÉES MÉTABOLIQUES

Les Ac antithyroperoxydase (Anti-TPO ou TPOAb) sont des auto-anticorps dirigés contre la peroxydase thyroïdienne. Celle-ci constitue l'antigène principal de la fraction microsomique impliquée dans l'auto-immunité thyroïdienne¹⁰¹.

La TPO est une protéine membranaire, isolée par Alexander en 1959, présente dans le compartiment intracellulaire et exprimée à la surface apicale des cellules thyroïdiennes ; c'est une enzyme clé intervenant dans l'organification de l'iodure pour la synthèse des HT. Elle est faite de 876 à 933 acides aminés (aa), et son poids moléculaire est de 101 – 107 kD.

Les anti-TPO sont des Ac polyclonaux habituellement de type IgG. Ils fixent le complément et jouent un rôle essentiel dans la cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps¹⁰².

Les anti-TPO sont présents chez 90 % à 100 % des patients présentant une thyroïdite avec hypothyroïdie clinique et 50 à 60 % des patients présentant une thyroïdite auto-immune infraclinique¹⁰³. Dans la maladie de Basedow, leur prévalence est estimée à 80 %. Les titres

d'Ac anti-TPO tendent à être plus élevés dans les formes atrophiques de thyroïdites lymphocytaires chroniques que dans les formes avec goitre. Les Ac anti-TPO sont présents, à de faibles titres, chez 10 – 13 % des femmes et 3 % des hommes de la population générale adulte ; 1 % seulement des sujets ont des titres supérieurs à 200 UI/mL ; 50 à 75 % des sujets ayant des Ac anti-TPO sont en euthyroïdie, 25 à 50 % en hypothyroïdie infraclinique et 5 à 10 % en hypothyroïdie franche.

La présence des Ac anti-TPO n'a qu'une valeur modérée de prédiction d'insuffisance thyroïdienne ultérieure, mais elle est fortement indicative lorsqu'elle est combinée avec une valeur de TSH supranormale¹⁰⁴.

3.2 DOSAGE DES ANTICORPS ANTI-TPO

Le dosage sérique le plus sensible et le plus spécifique des anticorps anti-TPO est réalisé par RIA utilisant des tubes revêtus d'anticorps, mais ce dosage peut également être fait par ELISA, les techniques d'hémagglutination sont moins sensibles du fait que ces Ac peuvent être dirigés contre des composants microsomaux différents de la TPO. C'est pour cela que les TPOAb ont été décrits comme des Ac antimicrosomes (AMA).

De nombreuses trousse dosent quantitativement les anti-TPO, avec des différences sur la nature des antigènes utilisés d'origine humaine, purifiées ou recombinantes et sur la nature du réactif signal : Ac polyclonal ou monoclonal, ces trousse sont calibrées selon le standard WHO 66/387¹⁰⁵.

Malgré cette calibration avec ce même calibrateur, il est rapporté une grande variabilité entre les différentes trousse et les différentes méthodes. Ce qui rend la comparaison difficile entre les valeurs des TPOAb dosés. Cette variabilité affecte aussi les limites de sensibilités du dosage (de 0,3 à 20 kUI/L) et les seuils de positivité des TPOAb¹⁰⁶. Ceci suggère que des niveaux faibles de TPOAb dans le sang sont compatibles avec une physiologie normale¹⁰⁷.

3.3 UTILITÉ DU DOSAGE DES TPOAb :

La recherche des TPOAb prend toute son importance dans la recherche étiologique des dysthyroïdies. Les TPOAb peuvent être associés à des hypo/hyperthyroïdies frustes ou cliniques. L'étude américaine, NHANES III¹¹ a révélé que l'hypothyroïdie est fortement associée à l'élévation des TPOAb, mais pas en ce qui concerne les TgAb, ce qui suggère que

seuls les TPOAb ont une étiologie auto-immune, par contre l'élévation concomitante de TgAb et TPOAb est plus significative¹⁰⁸.

L'importance clinique du dosage des TPOAb est liée à sa prévalence qui dépend de la sensibilité et la spécificité de la méthode utilisée. En outre, les facteurs ethniques et géographiques influencent la prévalence des TPOAb dans la population¹⁰⁹.

Environ 70 -80 % des patients atteints de la maladie de Basedow ou de maladie d'Hashimoto ou de thyroïdite du post-partum ont des TPOAb élevées¹¹⁰. Ces derniers sont aussi élevés dans d'autres pathologies auto-immunes non thyroïdiennes dans lequel aucun dysfonctionnement thyroïdien n'est évident^{111,112}.

Le dosage de TPOAb n'est pas recommandé dans le suivi des traitements des maladies thyroïdiennes auto-immunes. Les changements de concentration de TPOAb ne sont pas un bon reflet d'une amélioration de la maladie ou des effets du traitement¹¹³.

Les TPOAb ont été aussi retrouvés pendant la grossesse et ont été liés à des complications telles que des fausses couches, mort fœtale¹¹⁴, pré-éclampsie et accouchement préterme¹¹⁵. Mais les relations de cause à effet n'ont pas été encore établies.

4. ANTICORPS ANTITHYROGLOBULINE

4.1 DONNÉES MÉTABOLIQUES

Ce sont des auto-anticorps dirigés contre la thyroglobuline humaine de type IgG et qui ne fixent pas le complément¹¹⁶.

La thyroglobuline est synthétisée par les cellules thyroïdiennes et sécrétée dans la lumière folliculaire où elle représente le constituant majeur de la colloïde. Elle est le précurseur des hormones thyroïdiennes, c'est à la fois le site de l'iodation des résidus tyrosyls, du couplage des iodotyrosines en iodothyronines et après stockage dans la colloïde et recaptage par les cellules thyroïdiennes, de la libération par protéolyse des HT (T3 et T4). Chaque monomère de Tg comporte 2748 aa.

Chez l'homme, les auto-anticorps spontanés anti-Tg (TgAb) ne reconnaissent qu'un nombre limité d'épitopes sur l'ensemble de la molécule¹¹⁷. En revanche, plus de 40 épitopes sont reconnus par les anticorps générés par immunisation chez l'animal. Ces anticorps peuvent former des complexes immuns avec la Tg¹¹⁸.

En pratique clinique, les Ac anti-Tg sont moins informatifs que les Ac anti-TPO, en raison de leur moindre prévalence dans les maladies thyroïdiennes auto-immunes (MTAI) : 25 % dans la maladie de Basedow, 40 % dans les thyroïdites lymphocytaires chroniques et 0 à 5 % chez des sujets sains.

Les Ac anti-Tg sont surtout recherchés dans les cancers de la thyroïde en raison dans ces cas de leur présence relativement fréquente et surtout à cause de l'interférence qu'ils peuvent exercer sur le dosage de la Tg, entraînant une sous-estimation de cette dernière.

Les anti-Tg ne sont pas pathogènes chez l'homme. La teneur en iode de la Tg pourrait influencer son autoantigénicité, comme cela a été montré chez l'animal. La thyroïdite expérimentale auto-immune induite chez les souris est moins sévère si de la Tg faiblement iodée est utilisée pour l'immunisation¹¹⁹.

Parallèlement chez l'homme, l'augmentation de l'apport en iode pourrait accroître la sévérité des MTAI¹²⁰.

4.2 DOSAGE DES TgAb :

Le dosage des autoanticorps humains est un dosage par méthode sandwich basée sur la technique en phase solide des tubes recouverts de thyroglobuline et dont la courbe d'étalonnage a un profil croissant similaire à celui obtenu lors du dosage immunométrique (IRMA).

Par cette méthode, on obtient la formation de complexe entre le réactif de capture qui est une Tg d'origine humaine purifiée ou recombinante immobilisée sur phase solide et un réactif de révélation marqué à l'iode 125.

Malheureusement, la variabilité inter-méthode de ces dosages de TgAb est encore plus grande que celle des TPOAb¹²¹, ce qui affecte aussi la valeur seuil de positivité des TgAb qui peut être de l'ordre de 0,3 à 100 kUI/L malgré une calibration de référence internationale sur le standard WHO 65/93.

Aussi la présence des TgAb dans les sérums de sujets sains euthyroïdiens remet en cause la spécificité des dosages de TgAb, vraisemblablement « naturel » ou mise sur le compte de l'effet matrice ou une réaction croisée avec la Tg¹²².

4.3 UTILITÉ DU DOSAGE DES TgAb :

Les TgAb sont retrouvés dans les MTAI, le plus souvent en association avec les TPOAb. Là aussi l'étude NHANES III a révélé que seulement 3 % des sujets n'ayant pas de facteurs de risque de maladie thyroïdienne et pas de TPOAb détectable avaient présenté des TgAb dans leurs sérums¹²³, et que certains sujets ne présentaient pas d'association entre la présence isolée de TgAb et des anomalies de la TSH.

Le dosage des TgAb est principalement utilisé avec le dosage de la Tg dans les suivis des patients atteints de cancer différencié de la thyroïde (CDT). Le rôle du dosage des TgAb est double : il s'agit d'abord de vérifier que le dosage de Tg n'est pas compromis par des interférences de TgAb et ensuite d'avoir un substitut d'un marqueur tumoral chez les 20 % de patients ayant des taux élevés de TgAb. Ainsi, il est recommandé de doser la TgAb avant le dosage de la Tg, car il n'existe pas actuellement une valeur seuil de TgAb indiquant qu'il y a interférence avec la Tg¹²⁴.

CHAPITRE III : PATHOLOGIE THYROÏDIENNE

Il existe les états fonctionnels de la thyroïde, l'euthyroïdie, l'hyperthyroïdie et l'hypothyroïdie ; ces trois états peuvent se voir dans différents cas physiologiques ou pathologiques accompagnés ou non de modifications morphohistologiques de la thyroïde ou non.

1. HYPERTHYROÏDIE :

C'est l'état physiopathologique correspondant à un hyperfonctionnement de la thyroïde marquée par une sécrétion excessive dans le sang d'HT, soit la T4 ou la T3 ou les deux.

La fréquence de l'hyperthyroïdie est estimée entre 0,5 et 2 % de la population adulte, avec une prédominance 7 fois plus élevée chez la femme. Les enquêtes épidémiologiques récentes aux États-Unis et en Europe révèlent des chiffres qui varient entre 0,1 et 4 %, en fonction de la prise en compte des formes cliniques et subcliniques, de l'âge des sujets, de l'environnement¹²⁵.

Les hyperthyroïdies s'observent avec des fréquences presque égales à tout âge.

Chez les humains, les causes principales sont : la maladie de Basedow, l'adénome toxique de la thyroïde, le goitre multinodulaire toxique¹²⁶, et la thyroïdite subaiguë.

L'hyperthyroïdie se manifeste cliniquement par un syndrome fait d'un ensemble des troubles liés à l'excès d'hormones thyroïdiennes au niveau des tissus cibles : syndrome de thyrotoxicose¹²⁷.

- Troubles cardiovasculaires : Qui sont quasi constant marquées par une tachycardie sinusale exagérée à l'effort et persistante au repos. Des palpitations et parfois une dyspnée d'effort. Une augmentation de l'intensité des bruits du cœur « érétisme », parfois souffle systolique de débit. Le pouls est vibrant. La pression artérielle systolique est élevée. Parfois œdème des membres inférieurs.
- Troubles neuropsychiques : On retrouve une nervosité excessive et une agitation psychomotrice. Tremblement fin et régulier des extrémités et une fatigue générale.
- Thermophobie : Marquée par une hypersudation, mains chaudes et moites

- Amaigrissement : rapide et souvent important, contrastant avec un appétit conservé ou augmenté (polyphagie). Rarement prise paradoxale de poids.
- Polydipsie : Conséquence de l'augmentation de la production de chaleur
- Amyotrophie : Prédominant aux racines avec diminution de la force musculaire.
- Augmentation de la fréquence des selles : Par accélération du transit avec parfois véritable diarrhée motrice.
- Rétraction de la paupière supérieure : Découvrant l'iris avec asynergie oculo-palpébrale. En fait, surtout rencontrée en cas de maladie de Basedow.
- Gynécomastie chez l'homme et rarement trouble des règles (de tous types) chez la femme, mais la fertilité est habituellement conservée.

L'hyperthyroïdie est confirmée par une TSH effondrée, sauf dans certaines étiologies rares (examen à demander en première ligne). L'élévation de la FT4 et/ou de la FT3 (il existe des hyperthyroïdies à FT3 seule élevée) permet d'apprécier l'importance de la thyrotoxicose. Ces dosages sont demandés en deuxième intention en fonction du résultat de la TSH et du contexte clinique.

On peut avoir biologiquement une TSH effondrée contrastant avec un taux normal d'hormones thyroïdiennes, c'est les cas des hyperthyroïdies frustes caractérisées par une absence de signes cliniques d'hyperthyroïdie.

Une fois le diagnostic de thyrotoxicose posé, se pose ensuite la question de son origine et les causes en sont nombreuses. Parfois le diagnostic est évident cliniquement (présence d'une orbitopathie par exemple) dans d'autres cas le diagnostic s'appuie sur les examens complémentaires.

Les causes les plus fréquentes sont :

1.1 PATHOLOGIE AUTO-IMMUNE :

o Maladie de Basedow :

C'est la plus fréquente des causes d'hyperthyroïdie. Elle atteint dans certaines séries 1,9 % des femmes et 0,4 % des hommes (soit 1 % de la population). Touche surtout la femme jeune. C'est une maladie auto-immune due à des anticorps stimulant le récepteur de la TSH, et qui survient sur terrain génétiquement prédisposé, elle est parfois associée à d'autres maladies auto-immunes ; elle évolue spontanément par poussées suivies de rémission¹²⁸.

Aux signes de thyrotoxicose, présents à des degrés divers, s'associent dans les formes typiques :

- Un goitre d'importance variable, diffus, homogène, élastique, vasculaire (présence d'un souffle à l'auscultation de la thyroïde)
- Des manifestations oculaires (orbitopathie) spécifiques de la maladie, mais inconstantes cliniquement (environ 50 %, surtout chez les fumeurs)
- Exophtalmie, œdème des paupières.
- La dermopathie « myxœdème pré tibial » : Se manifeste par un placard rouge, surélevé, induré de la face antérieure des jambes, parfois de chevilles
- *Aux examens complémentaires* lorsqu'existent des manifestations oculaires spécifiques le diagnostic de maladie de Basedow est assuré. Dans les autres cas, il repose sur l'échographie, montrant une glande globalement hypoéchogène et très vascularisée et la scintigraphie thyroïdienne, montrant une hyperfixation diffuse et homogène de l'isotope.
- **Autres hyperthyroïdies auto-immunes qui peuvent se manifester par des hyperthyroïdies :**
 - *La thyroïdite de Hashimoto* peut être responsable dans sa phase initiale d'une hyperthyroïdie (« hashitoxicose ») avant l'installation de l'hypothyroïdie. Le tableau diffère de celui de la maladie de Basedow : goitre irrégulier et très ferme, aspect hypoéchogène hétérogène et pseudo nodulaire à l'échographie, fixation faible et hétérogène de l'isotope en scintigraphie, absence d'anticorps anti récepteur de la TSH, présence d'anticorps anti-TPO à un titre élevé.
 - *La thyroïdite du post-partum* est une variété de thyroïdite auto-immune (« thyroïdite silencieuse » rarement observée en dehors du post-partum), elle touche environ 5 % des femmes dans les semaines suivant l'accouchement, mais passe souvent inaperçue. Elle se manifeste par une hyperthyroïdie transitoire (avec scintigraphie « blanche » en raison de la lyse initiale des thyrocytes et hypoéchogénicité de la glande) ou suivie d'hypothyroïdie, ou une hypothyroïdie transitoire (mais parfois définitive). Les anticorps anti-TPO très positifs. La maladie. L'hyperthyroïdie peut récidiver après chaque grossesse.

1.2 LES NODULES HYPERSECRETANTS :

Ils touchent surtout les femmes et se manifestent à un âge plus avancé que la maladie de Basedow (patients plus fragiles : peuvent être révélés par une complication cardiaque) et se traduisent par un *syndrome de thyrotoxicose pur*.

1.3 LE GOITRE MULTINODULAIRE TOXIQUE

Il est l'évolution naturelle des goitres multinodulaires anciens. L'hyperthyroïdie peut être déclenchée par un apport massif d'iode (examen avec produit de contraste iodé, médicament). L'examen clinique montre un goitre multinodulaire, confirmé par l'échographie.

La scintigraphie, si pratiquée, montre une alternance de plages chaudes et froides.

1.4 L'ADÉNOME TOXIQUE

Il est dû dans certains cas à une mutation somatique activatrice du récepteur de la TSH. L'examen clinique permet de palper un nodule unique, tissulaire ou partiellement kystique à l'échographie.

La scintigraphie est nécessaire au diagnostic : hyperfixation de l'isotope au niveau du nodule alors que le reste du parenchyme est hypofixant ou froid (« éteint ») en raison de la diminution de la TSH.

1.5 LES HYPERTHYROÏDIÉS IATROGENES :

- Iode : Les produits de contraste iodé et surtout certains médicaments (amiodarone : CORDARONE®) peuvent être responsables d'une thyrotoxicose¹²⁹ selon deux mécanismes :
 - Effet de l'apport brutal d'iode sur une pathologie thyroïdienne nodulaire préexistante (Type I) : la thyroïde est dystrophique et hypervascularisée à l'échographie, la scintigraphie montre des zones de fixation au niveau des structures actives malgré la saturation
 - Effet toxique de l'iode sur les thyrocytes entraînant une lyse des cellules thyroïdiennes par thyroïdite (Type II) : la thyroïde est normale, l'échographie montre

une glande hypoéchogène, la scintigraphie montre une absence totale de fixation.

- Hormones thyroïdiennes : La prise d'hormones thyroïdiennes dans un but amaigrissant, non toujours révélée par le patient, peut entraîner une thyrotoxicose (thyrotoxicose « factice »). L'attention peut être attirée par la profession du patient (accès facile aux médicaments) l'absence de dystrophie thyroïdienne. Le diagnostic est confirmé par la scintigraphie (absence de fixation) et le dosage de la thyroglobuline, effondrée, traduisant la mise au repos de la glande.
- Interféron : les interférons sont des cytokines intervenant dans la régulation de l'immunité. Les dysthyroïdies sous interféron α surtout, mais aussi β et γ) sont fréquentes (5 à 40 % selon les séries) et surviennent surtout chez les patients prédisposés porteurs d'anticorps anti thyroïdiens. Elles se présentent surtout comme des thyroïdites de Hashimoto avec éventuellement une phase d'hyperthyroïdie suivie d'hypothyroïdie, mais aussi comme de véritables maladies de Basedow avec présence d'anticorps anti récepteur de la TSH. Elles ne disparaissent pas toujours à l'arrêt du traitement.

1.6 LA THYROÏDITE SUBAIGUË DE QUERVAIN

C'est une affection banale d'origine virale, atteignant généralement toute la glande ou peut être localisée. Elle se traduit par un état inflammatoire initial dans un contexte grippal, avec goitre douloureux, fièvre, augmentation de la VS et de la CRP.

Elle se manifeste par une phase initiale d'hyperthyroïdie (par lyse des cellules) suivie d'une phase d'hypothyroïdie, puis récupération en 2 ou 3 mois. Le diagnostic est essentiellement clinique, mais peut être aidé par l'échographie (aspect hypoéchogène), voire la scintigraphie dans les cas difficiles (absence de fixation). D'autres moyens sont utilisés par ne pas la confondre avec une maladie de Basedow dans sa phase d'hyperthyroïdie¹³⁰.

1.7 LA THYROTOXICOSE GESTATIONNELLE TRANSITOIRE

Cette situation est présente dans 2 % des grossesses. Elle est due à l'effet stimulant de l'hCG sur le récepteur de la TSH et se manifeste au premier trimestre de la grossesse¹³¹ par une nervosité excessive, une tachycardie, l'absence de prise de poids, s'accompagne dans les formes sévères de vomissements et régresse spontanément en deuxième partie de gestation.

Elle passe souvent inaperçue, mais peut créer une thyrotoxicose importante. Elle est à distinguer d'une maladie de Basedow par une absence d'anticorps anti-récepteurs de la TSH.

1.8 CAUSES RARES

C'est le cas des métastases massives sécrétantes d'un cancer thyroïdien vésiculaire différencié ou des tumeurs ovariennes (môles hydatiformes) sécrétant de l'hCG. Aussi, deux autres causes à ne pas oublier : l'adénome hypophysaire thyrotrope et syndrome de résistance aux hormones thyroïdiennes dans sa forme hypophysaire dominante (mutation du récepteur β aux hormones thyroïdiennes).

2. HYPOTHYROÏDIE :

Ce syndrome a été décrit pour la première fois en 1974 par Gull¹³² avec l'appellation Myxœdème de l'adulte, puis par Reverdin en 1883¹³³.

L'hypothyroïdie est définie comme étant la production thyroïdienne déficiente d'HT. Cette affection est fréquente avec une prévalence de 1 à 2 % en Europe, et un ratio F/H = 10. Elles sont plus fréquentes dans les zones de grande carence iodée en d'endémie goitreuse où elles constituent un véritable problème de santé publique, surtout dans le cas des hypothyroïdies congénitales.

L'origine de l'hypothyroïdie dépend de son niveau, soit elle est due à défaut de stimulation de la thyroïde par les structures cérébrales (hypophyse ou hypothalamus) correspondantes à une insuffisance thyrotrope hypothalamique ou hypophysaire, soit elle est due à une déficience de la glande thyroïde elle-même et on est dans le cadre d'une insuffisance thyroïdienne.

Bien que l'hypothyroïdie se présente généralement par des signes peu alarmants et frustes, elle se manifeste cliniquement (dans les cas évolués) par des signes d'hypométabolisme et des signes cutanéomuqueux¹³⁴.

- Signes d'hypométabolisme :
 - Ralentissement physique (Asthénie, lenteur), psychique (dépression), et intellectuel (désintérêt, débilité).
 - Troubles cardiovasculaires (bradycardie, bruits cardiaques assourdis),

diminution du débit cardiaque, hypotension artérielle.

- Troubles neuromusculaires : infiltration musculaire, myasthénie, hyporéflexie.
- Constipation
- Diminution de la température corporelle et frilosité.
- Parfois aménorrhée chez la femme.
- Signes cutanéomuqueux :
 - Il s'agit du « myxœdème », origine de l'appellation de la maladie.
 - Infiltration de la peau : visage arrondi, avec paupières gonflées, des lèvres épaisses, œdème comblant les creux sus-claviculaires et axillaires.
 - Mains, pieds et doigt boudinés.
 - Diminution de la force musculaire, les muscles sont tendus et sensibles avec des myalgies des crampes.
 - La prise de poids est modérée.
 - Infiltration des muqueuses : Macroglossie, infiltration laryngée et des cordes vocales, ronflement et hypoacousie.
 - Troubles de la peau et des phanères : Peau sèche, écailleuse, teint cireux avec érythrocyanose des lèvres et des pommettes. Cheveux et poils secs, cassants et clairsemés.

- **Diagnostic d'une hypothyroïdie :**

Facilement fait en biologie montrant :

- TSH augmentée : c'est le meilleur examen de dépistage. Bien que certaines études ont trouvé des discordances¹³⁵.
- FT4 diminuée de manière plus ou moins importante selon le degré de l'hypothyroïdie.

Le dosage de la FT3 n'a pas d'intérêt, ni pour le diagnostic ni pour la surveillance. L'enquête étiologique et la recherche d'anticorps anti-TPO (TPOAb), anti-Tg (TgAb) et anti-TSH (TRAb). L'échographie thyroïdienne retrouve soit une petite thyroïde atrophique du myxœdème idiopathique ou une grosse thyroïde homogène et très hypoéchogène dans la thyroïdite de HASHIMOTO

La scintigraphie thyroïdienne ne doit pas être systématiquement demandée, elle retrouve un aspect caractéristique « en damier » en cas de thyroïdite de HASHIMOTO, l'infiltration lymphocytaire de la glande étant souvent irrégulière ou une hyperfixation dans l'hypothyroïdie induite par l'iode ou par troubles congénitaux de l'hormonosynthèse (l'organification de l'iode est bloquée, mais non sa captation).

Cet examen est surtout utile pour rechercher une thyroïde ectopique dans les hypothyroïdies congénitales.

Le dosage de l'iodurie des 24 h à la recherche d'une surcharge iodée.

Chez l'adulte plusieurs étiologies se manifestent par une hypothyroïdie¹³⁶ :

2.1 PATHOLOGIE AUTO-IMMUNE :

Les insuffisances thyroïdiennes auto-immunes ont un caractère familial et s'associent volontiers à d'autres maladies auto-immunes chez le patient ou d'autres membres de la famille, dans le cadre des polyendocrinopathies auto-immunes : maladie de BIERMER, vitiligo, diabète insulino-dépendant, ménopause précoce, etc. L'association à une insuffisance surrénale auto-immune constitue le syndrome de SCHMIDT.

L'hypothyroïdie est due à :

- Des anticorps anti peroxydase (anti-TPO) :
 - Thyroïdite de HASHIMOTO, accompagnée de goitre avec infiltration lymphoplasmocytaire de la glande. Elle touche surtout la femme d'âge moyen, s'accompagne de titres très élevés d'anticorps anti-TPO, plus accessoirement d'anticorps anti-Tg. La thyroïdite de Hashimoto peut être associée ou succéder à une maladie de Basedow, ce qui explique l'évolution spontanée de certaines hyperthyroïdies basedowiennes vers l'insuffisance thyroïdienne.
 - La thyroïdite atrophique (ou « Myxœdème idiopathique »). Elle s'accompagne d'une atrophie de la glande thyroïde, touche surtout la femme âgée. Les anticorps anti-TPO sont présents à un titre moins élevé que dans la thyroïdite de Hashimoto, mais il s'agit de deux affections très voisines.
 - Thyroïdite du post-partum, avec hypothyroïdie précédée ou non d'une phase transitoire d'hyperthyroïdie. Elle est souvent peu symptomatique, mais serait fréquente (prévalence : 5 à 10 %). Elle est généralement spontanément régressive.

- Origine iatrogène : des cytokines (interféron α et γ) déclenchent parfois une réaction auto-immune thyroïdienne avec le plus souvent hypothyroïdie.
- Des anticorps bloquants le récepteur de la TSH :

Certains des anticorps se fixant sur le récepteur de la TSH (TRAb) peuvent le stimuler et créer une maladie de Basedow, mais beaucoup plus rarement le bloquer et entraîner alors une hypothyroïdie.

2.2 CARENCE IODÉE :

C'est la cause la plus fréquente d'hypothyroïdie dans les zones de grande carence iodée et d'endémie goitreuse (Afrique centrale, Népal).

Elle est responsable d'insuffisance thyroïdienne grave existant dès la vie intra-utérine quand la mère est également carencée, avec goitre volumineux, crétinisme, troubles neurologiques irréversibles.

2.3 ORIGINES IATROGÈNES :

- Médicamenteuses
 - Iode : L'apport massif d'iode peut bloquer l'organification de l'iode et entraîner une hypothyroïdie si l'échappement normal à cet effet ne se produit pas (effet Wolf Chaikoff). De nombreux médicaments et produits de contraste iodés peuvent être en cause, surtout l'amiodarone (CORDARONE®). Ces hypothyroïdies induites par l'iode révèlent le plus souvent une MTAI sous-jacente.
 - Lithium : Ce produit a une action antithyroïdienne qui peut se manifester après des années de traitement. Comme l'iode, peut révéler une MTAI.
 - Antithyroïdiens de synthèse¹³⁷ : cause évidente.
- Chirurgie

Thyroïdectomie totale qui entraîne inéluctablement une hypothyroïdie quel que soit son étiologie (cancer thyroïdien, goitre multinodulaire).

Thyroïdectomie subtotale pour maladie de Basedow : l'insuffisance thyroïdienne peut survenir des années après la chirurgie. Elle est en fait souvent due au développement d'une

MTAI sur le moignon restant.

- Radiothérapie cervicale externe :
L'hypothyroïdie est fréquente après irradiation pour Maladie de Hodgkin, cancer ORL, due à une destruction de la glande ou à l'induction d'une MTAI par l'irradiation.
- Radiothérapie métabolique par ^{131}I :
C'est l'effet secondaire attendu d'une Irathérapie pour maladie de Basedow (environ 50 % à 10 ans). Elle est rare après irradiation pour adénome toxique.

2.4 THYROÏDITE SUBAIGUË DE DE QUERVAIN

Après une phase transitoire d'hyperthyroïdie par lyse cellulaire, la thyroïdite entraîne une hypothyroïdie souvent peu symptomatique et également transitoire avant la restitution ad integrum.

2.5 CAUSES PLUS RARES :

- *Maladies infiltratives de la thyroïde :*
Lymphomes, sarcoïdose, tuberculose, thyroïdite de RIEDEL (thyroïdite fibreuse de cause inconnue).
 - *Troubles congénitaux :* Agénésie thyroïdienne ou anomalie de migration de la thyroïde qui reste en position linguale
 - Troubles de l'hormonosynthèse par mutation des gènes codant pour les protéines du thyrocyte : NIS, thyroglobuline, peroxydase. Le syndrome de PENDRED associe un goitre avec hypothyroïdie et une surdité. Il est dû à une mutation du gène de la « pendrine », intervenant dans le transport intracellulaire de l'iode.
- *Mutation du récepteur de la TSH*
Responsable non plus d'une activation constitutive du récepteur comme dans certaines hyperthyroïdies, mais de son blocage. Cette affection génétique est exceptionnelle.
- *Mutations du récepteur aux hormones thyroïdiennes : syndrome de résistance aux hormones thyroïdiennes.*

Il peut être responsable d'une hypothyroïdie (avec TSH et FT4 élevées), mais est le plus souvent asymptomatique et découvert lors d'une enquête familiale, voire responsable d'une hyperthyroïdie quand la résistance hypophysaire est plus importante que celle des tissus périphériques. Il s'agit d'une affection rare transmise sur le mode autosomique récessif.

2.6 INSUFFISANCE THYRÉOTROPE :

Elle s'intègre généralement dans le cadre d'une insuffisance antéhypophysaire globale. Les signes d'hypothyroïdie sont le plus souvent discrets. Les étiologies sont celles des insuffisances hypophysaires et hypothalamiques.

CHAPITRE IV : RADIOIMMUNODOSAGE

1. DÉFINITION

Le radioimmunos dosage (RID) est une méthode immunoanalytique basée sur la réaction antigène-anticorps comme mode d'identification et sur la radioactivité comme mode de détection, pour le dosage des analytes (immunogènes) dans les liquides biologiques. Cette méthode est dotée d'une grande sensibilité et d'une grande spécificité.

Dans le domaine des HT, le RID a permis d'améliorer le diagnostic en biologie thyroïdienne et a influencé les stratégies cliniques pour la détection et le traitement des troubles de la thyroïde.

Dans les années 1950, un seul test pour la thyroïde était disponible, il consistait en l'estimation indirecte de la concentration totale de la thyroxine (T4) sérique, en utilisant la technique de détermination de l'iode protéique¹³⁸.

À l'heure actuelle, il est possible de doser des concentrations picomolaires d'hormones thyroïdiennes libre et totales, de la thyrotropine (TSH) et de la thyroglobuline (Tg)^{139,140}.

Des déterminations de protéines de liaison des hormones thyroïdiennes (Thyroxine Binding Globulin (TBG), transthyrétine (TTR)/Préalbumine et Albumine) peuvent également être faites¹⁴¹. Le fait l'auto-immunité représente une cause majeure de dysfonctionnement de la thyroïde a conduit au développement de tests pour la détection des auto-anticorps antithyroïdiens tels que les Ac antiperoxydase (TPOAb), les Ac antithyroglobuline (TgAb) et les Ac anti-récepteurs de la TSH (TRAb)¹⁴².

En biologie de la thyroïde les dosages sont effectués principalement sur des sérums en utilisant des méthodes manuelles ou automatisées. Il en résulte une variabilité analytique, avec des pertes de sensibilités, de spécificités et de normalisations des dosages entraînant toujours une certaine discordance entre les méthodes pour beaucoup de ces tests¹⁴³. Pour résoudre ce problème, de nouvelles normes de performance sont mises en place par les organisations professionnelles en même temps que les avancées technologiques sont réalisées par les fabricants¹⁴⁴.

Les radioimmunos dosages sont des méthodes relatives qui reposent obligatoirement sur la comparaison de la réponse d'un système pour une quantité inconnue de substance à doser et à

la réponse du même système pour des quantités connues d'une substance considérée comme étalon.

C'est pourquoi on réalise une courbe de calibration ou d'étalonnage à partir de solutions contenant des concentrations connues de l'analyte. La concentration des spécimens à doser est déduite du signal radioactif mesuré (CPM), par interpolation sur la courbe de calibration.

2. PRINCIPES GÉNÉRAUX DES MÉTHODES DE DOSAGE

Les schémas réactionnels des RID peuvent être classés en deux grandes catégories :

- Techniques dites par « défaut d'anticorps ».
- Techniques dites « en sandwich ».

2.1 MÉTHODES DE DOSAGE PAR DÉFAUT D'ANTICORPS :

Cette méthode a été proposée 1960 par Yalow R.S et Berson S. lors des premiers dosages radioimmunologiques de l'insuline.

Il s'agit d'une technique dans laquelle des molécules marquées et non marquées en excès d'une même espèce entrent en compétition vis-à-vis d'un nombre limité de sites de liaison appartenant à un réactif spécifique (Ac le plus souvent). Une fois l'équilibre atteint, le pourcentage de marqueur lié est inversement proportionnel à la concentration de substance non marquée que l'on veut doser et qui a été ajoutée au milieu réactionnel¹⁴⁵.

Le plus souvent, la substance à doser est l'antigène (Ag) et le réactif spécifique un anticorps (Ac) dirigé contre un épitope de l'antigène. L'antigène marqué (Ag*) a pour but de quantifier la réaction selon le schéma :

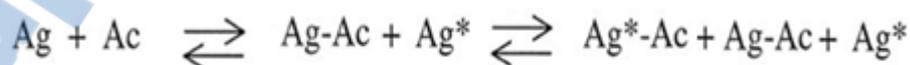


Figure 8. Schéma réactionnel d'une méthode de dosage par défaut d'anticorps

À condition de maintenir constantes les concentrations en Ac et en Ag* et de faire en sorte que la concentration en Ac soit inférieure à la concentration en Ag*, on comprend qu'une augmentation de la concentration en antigène se traduise par une augmentation de la formation du complexe Ag-Ac au détriment du complexe Ag*-Ac.

Il en résulte une diminution du signal lorsque la concentration en Ag augmente. Cette relation constitue la base du RID (figure 9).

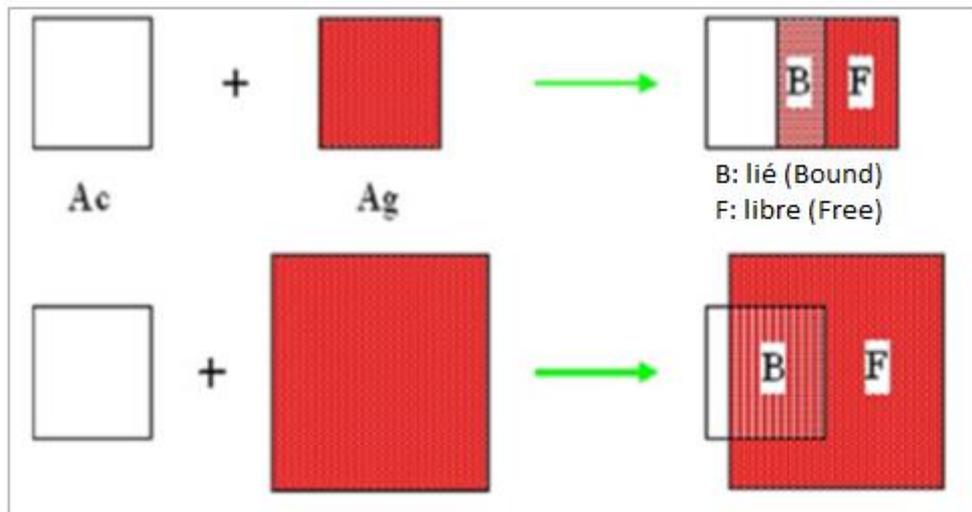


Figure 9. Principe d'un dosage par défaut d'anticorps¹³¹

Appliquée à des solutions de concentration connues, les calibrateurs, elle se traduit par une courbe de calibration qui a la forme caractéristique représentée en figure 10.

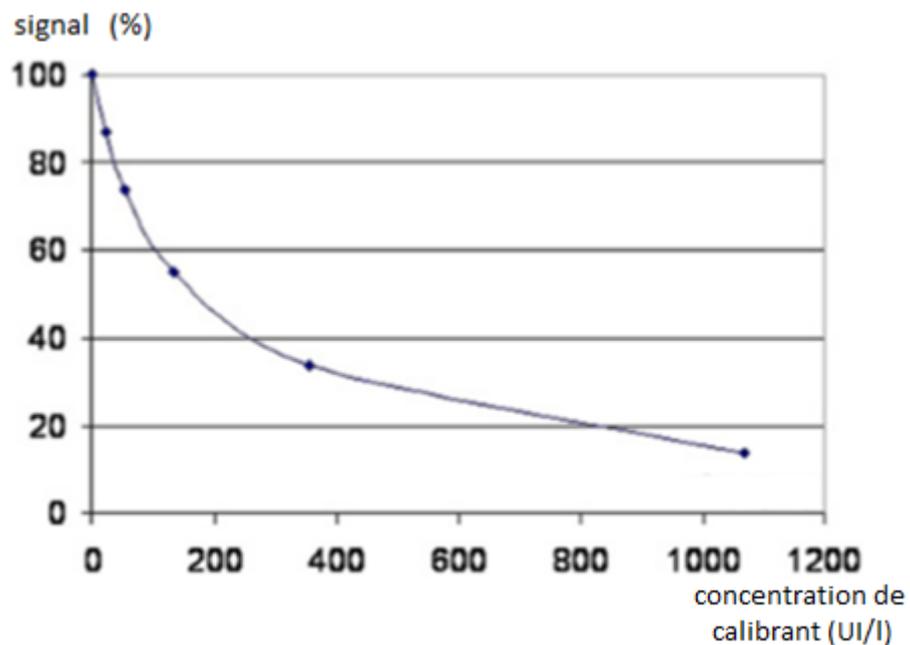


Figure 10. Courbe d'étalonnage au cours d'un dosage par défaut d'anticorps¹³¹

2.1.1 AVANTAGES DES MÉTHODES DE DOSAGE PAR DÉFAUT D'ANTICORPS

Le principal avantage réside dans la praticabilité de cette méthode, car elle peut s'appliquer à tous les antigènes quel que soit leur taille, en particulier les haptènes, car la réaction générale antigène anticorps se fait en une seule étape et un seul épitope est nécessaire à l'Ag pour être reconnu par l'Ac.

Le deuxième avantage est que cette méthode nécessite seulement le marquage de l'Ag et de ce fait limite la fabrication et le marquage des Ac monoclonaux. Le troisième avantage est son coût plus réduit que celui des autres techniques.

2.1.2 INCONVÉNIENTS DES MÉTHODES DE DOSAGE PAR DÉFAUT D'ANTICORPS

La mise en réaction d'un seul épitope-paratope pour la réaction Ag-Ac, n'a pas que des avantages ; En effet, dans ces conditions la réaction Ag-Ac nécessite un coefficient d'affinité élevée pour obtenir une limite de détection faible et un nombre constant de sites d'Ac dans chaque tube de réaction pour avoir une bonne précision.

Aussi puisque le paratope de l'Ac est dirigé vers un seul épitope, il risque d'y avoir plus de réactions croisées avec les métabolites analogues porteurs de cet épitope antigénique.

2.2 MÉTHODE DE DOSAGE PAR EXCÈS D'ANTICORPS :

La méthode initiale a été proposée par Miles L. et Hales C. en 1968. Maintenant, il existe plusieurs variantes de cette méthode, la plus répandue est la méthode immunométrique à deux sites ou méthode « sandwich ». Elle consiste à extraire les analytes de l'échantillon grâce à un Ac de capture, en excès fixé sur un support solide (tube, en général) puis les révéler à l'aide d'un Ac marqué de révélation également en excès.

L'analyte présent dans le spécimen à doser ou dans les calibrateurs se lie aux sites Ac fixés sur le support solide. L'Ac marqué, ajouté au milieu réactionnel, se lie alors à l'antigène déjà fixé sur le premier Ac.

L'analyte se trouve ainsi littéralement pris en « sandwich » entre les deux Ac. Le principe de la méthode sandwich est illustré dans la figure 11.

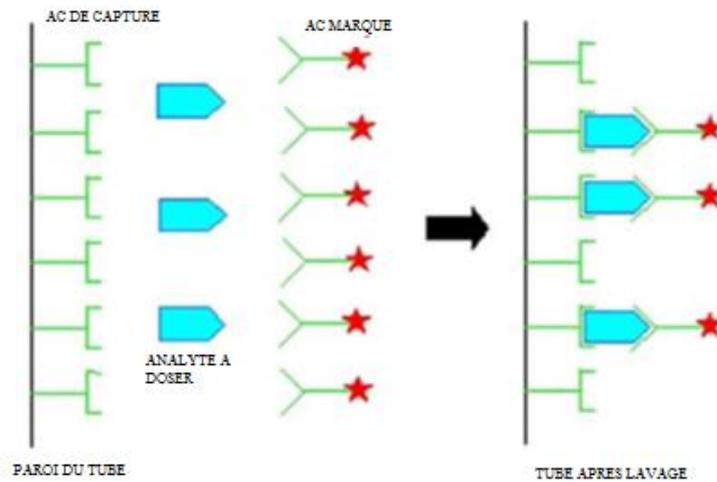


Figure 11. Schéma de principe de la méthode Sandwich¹³¹

Il suffit enfin d'éliminer l'excès d'Ac marqué. Cette opération est simplifiée par l'utilisation du support solide qui permet, de plus, de rendre la séparation complète en effectuant un ou plusieurs lavages.

Sur ce principe, divers modes opératoires peuvent être suivis : notamment, l'addition de l'Ag et de l'Ac marqué peut se faire en une ou deux étapes. Les deux Ac sont, en général, choisis de manière à réagir avec deux épitopes de la molécule d'antigène différents et suffisamment éloignés l'un de l'autre.

Dans ces conditions, la courbe de calibration obtenue lorsque le signal radioactif est mesuré sur la phase solide à l'allure de la figure 12.

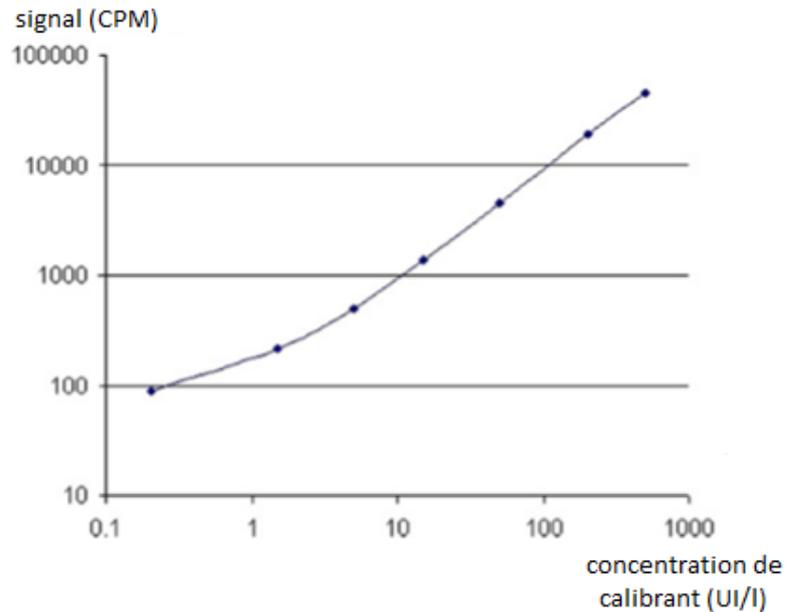


Figure 12. Courbe d'étalonnage d'un dosage type sandwich¹³¹

2.2.1 AVANTAGES DES MÉTHODES DE DOSAGE PAR EXCÈS D'ANTICORPS :

L'utilisation de deux Ac dirigés contre deux épitopes différents de l'Ag augmente la spécificité de ce type de dosage.

L'amélioration de la détectabilité : les méthodes par excès d'Ac ont permis un gain d'un facteur compris entre 10 à 1000 par rapport aux méthodes par défaut d'Ac. Cela s'explique, d'une part, par le fait que la constante d'équilibre de la réaction Ag-Ac ne constitue plus un facteur limitant en raison de l'excès de réactif introduit ; d'autre part, qu'il est plus facile de détecter l'augmentation d'un signal radioactif faible (cas de la méthode sandwich) que la diminution d'un signal élevé (cas de la méthode par défaut d'Anticorps).

Élargissement du domaine de mesure : il suffit théoriquement d'augmenter la concentration en Ac pour augmenter la quantité d'analyte susceptible d'être mesurée.

2.2.2 INCONVÉNIENTS DES MÉTHODES DE DOSAGE PAR EXCÈS D'ANTICORPS :

Nécessité pour la molécule de posséder deux sites différents : cette condition exclut la possibilité de mettre au point ce type de méthodes pour les haptènes (HT, stéroïdes,

médicaments, etc.). En revanche, il s'agit de la méthode de choix lorsque la masse molaire est supérieure à $10\,000\text{ g.mol}^{-1}$.

- Effet crochet (« hook effect ») : lorsque la concentration en Ag est très élevée (plusieurs fois supérieures à la concentration du dernier point de la gamme d'étalonnage), le signal mesuré sur la phase solide peut diminuer jusqu'à devenir inférieur à celui du dernier point de la gamme d'étalonnage (figure13).

La concentration lue sur la courbe est alors sous-estimée pouvant conduire à une interprétation complètement erronée.

L'explication est que l'excès de la substance (ou Ag) à doser peut faire écran et empêcher le réactif de révélation marqué à l'iode 125 de se fixer à la première partie du complexe formé réactif (ou AC) de fixation – substance (ou Ag) à doser, conduisant ainsi à une diminution de fixation du réactif de révélation marqué (Iode 125) et par conséquent une diminution de la radioactivité détectée et une sous-estimation des résultats. D'où la nécessité d'effectuer un premier lavage avant d'effectuer la distribution de la radioactivité (réactif de révélation marqué à l'iode 125).

En réalité l'effet crochet n'est pas en soi un problème majeur puisqu'il peut être résolu par une dilution de l'échantillon. Le résultat obtenu après dilution est corrigé selon le facteur de dilution.

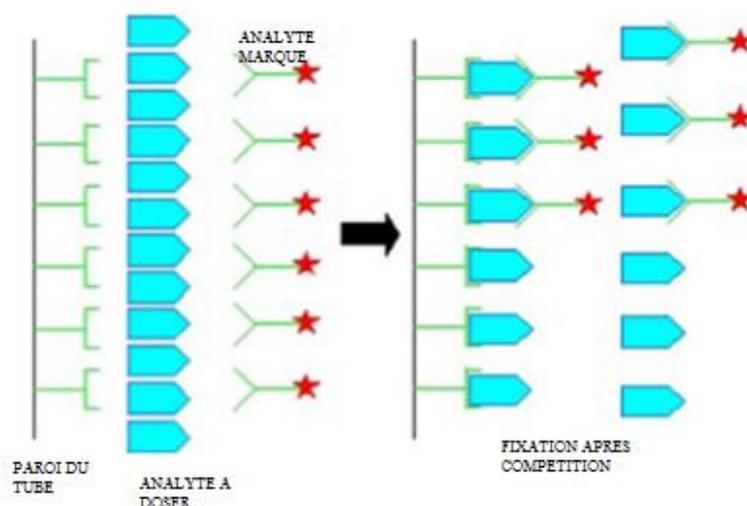


Figure 13. Représentation schématique de l'effet crochet.¹³¹

- Interférence avec des Ac hétérophiles : les méthodes immunométriques qui sont consommatrices de grandes quantités d'Ac ont connu leur essor grâce à l'apparition

des Ac monoclonaux. La présence d'Ac dirigés contre les immunoglobulines de l'espèce qui a servi à l'apparition des Ac monoclonaux est susceptible d'interférer dans le dosage.

C'est ainsi que la présence, dans le sérum à doser, d'Ac contre les immunoglobulines de souris (« human antimouse antibodies » ou HAMA) constitue une cause d'erreur relativement fréquente pour les méthodes immunométriques qui utilisent des Ac monoclonaux de souris. Ces Ac apparaissent dans diverses circonstances : sujets en contact avec des animaux, maladies auto-immunes. Lorsque ces HAMA interfèrent dans le dosage, ils conduisent le plus souvent à une surestimation de la concentration de l'analyte à doser.

Pour éviter cet inconvénient, plusieurs moyens sont mis en œuvre par les fabricants de trousse : utilisation de fragment F (ab) 2, car les HAMA sont plus fréquemment dirigés contre le fragment Fc, d'Ac de capture et de révélation provenant de deux espèces animales différentes ou de « réactifs bloquants » constitués d'immunoglobulines de l'espèce qui a donné naissance aux Ac monoclonaux.

Cependant, aucune méthode de neutralisation actuelle n'est parfaite, ce qui oblige le biologiste et le clinicien à rester vigilant devant tout résultat discordant dans un bilan.

3. NOTIONS SUR LE MARQUEUR RADIOACTIF :

Le marquage de molécules (Ag et Ac) a pour but de suivre l'évolution de la réaction immunologique et d'apprécier la distribution entre les formes libres et liées. Historiquement, le signal radioactif est le premier à avoir été utilisé en immunoanalyse.

3.1 CHOIX DU RADIO-ISOTOPE :

Les critères de choix d'un radio-isotope reposent sur la période radioactive qui ne doit être ni trop courte (marquages trop fréquents) ni trop longue (signal radioactif insuffisant), sur la facilité de détection qui dépend de la nature et de l'énergie du rayonnement émis et sur la simplicité des opérations de marquage.

En pratique, les radio-isotopes les plus utilisés sont l'iode 125 (^{125}I), le tritium (^3H) et le cobalt 57 (^{57}Co). Leurs principales caractéristiques sont indiquées dans le tableau II.

Tableau II : caractéristiques des marqueurs radioactifs utilisés en RID

Radio-isotope	Période (T)	Rayonnement détecté (énergie)	Activité molaire maximum (1 atome radioactif/molécule)
^3H	12,3 ans	β^- ($E_{\beta\text{max}} = 18,5 \text{ keV}$)	1070 GBq.mmol ⁻¹
^{125}I	59,7 jours	γ (35,5 keV), X	80500 GBq.mmol ⁻¹
^{57}Co	270 jours	γ (122 et 136 keV)	17900 GBq.mmol ⁻¹

La période de ^{125}I représente le compromis idéal entre une activité (nombre de désintégration par unité de temps), c'est-à-dire un signal mesuré suffisant et une durée de vie acceptable du réactif marqué (6 semaines environ). De plus, les rayonnements émis (gamma et X) sont faciles à détecter par scintillation en milieu solide. Ces raisons font que le ^{125}I est actuellement, le radio-isotope de choix en RID, même pour le marquage des haptènes.

3.2 MÉTHODE DE MARQUAGE :

Une technique de marquage permettant l'addition d'un atome ^{125}I à des molécules de petite taille tout en préservant leur immunoréactivité a été décrite en 1968 par Oliver¹⁴⁶.

Celle-ci consiste en la synthèse d'un analogue comprenant un groupement histidyl ou tyrosyl sur lequel est fixé l'iode (figure 14).

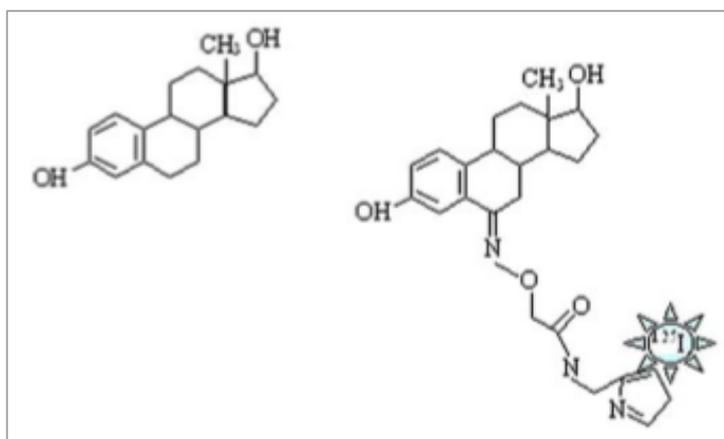


Figure 14. Représentation schématique de l'œstradiol et d'un analogue marqué à l'iode ^{125}I ¹³¹

Et lui-même lié à la molécule en un point judicieusement choisi de façon à ne pas gêner la réaction avec les Ac.

Cette méthode de marquage à ^{125}I a pu être appliquée à pratiquement toutes les petites molécules et, grâce à elle, ^{125}I est devenu ces dernières années le radio-isotope le plus utilisé aussi bien pour le dosage par défaut d'anticorps (RIA) et pour le dosage radioimmunométrique (IRMA). Le marquage au ^3H (tritium) est de plus en plus rare et

réservé aux cas où le marquage à ^{125}I n'est pas réalisable ou conduit à des molécules instables.

Le ^{57}Co est utilisé associé à ^{125}I pour le dosage simultané de deux analytes (dosage simultané de vitamine B12 et d'acide folique, par exemple).

Deux types de marquage sont possibles :

- Remplacement d'un atome par son isotope radioactif, pour les petites molécules : on fixe ainsi un ou plusieurs atomes d' ^{125}I sur les HT (FT3 et FT4). C'est un procédé très difficile à réaliser et est l'apanage de laboratoires spécialisés.
- Marquage à l'aide d'un hétéroatome : ce procédé beaucoup plus simple que le précédent, est très employé. Son principe consiste à oxyder l'iodure (I^-) radioactif en I ou I^+ qui se fixent sur les noyaux aromatiques, tyrosine principalement. Les méthodes de marquages diffèrent selon l'oxydant qui peut être chimique (chloramine T) ou enzymatique (lactoperoxydase).

À l'issue du marquage, le milieu réactionnel renferme un mélange complexe à partir duquel il faut isoler la molécule marquée de l'excès de l'iode restant et des produits dégradés, soit par électrophorèse, chromatographie d'échange d'ions, chromatographie sur couche mince ou chromatographie liquide haute pression (HPLC).

Ce marquage ne doit pas altérer les propriétés physicochimiques et immunologiques des molécules et il est important de vérifier les caractéristiques du produit marqué obtenu (immunoréactivité, activité molaire et stabilité). En fait, il existe toujours un phénomène de radiolyse dû à une absorption intramoléculaire d'énergie qui provoque une dénaturation au fil du temps et qui limite la durée d'emploi des réactifs marqués à environ 6 semaines.

3.3 MESURE DU SIGNAL RADIOACTIF :

Le signal est mesuré par des détecteurs à scintillation solide. Leur principe repose sur la transformation du rayonnement énergétique en rayonnement lumineux puis en signal électrique par un photomultiplicateur. À chaque rayonnement traversant le scintillateur correspond une impulsion dont la hauteur est proportionnelle à l'énergie du rayonnement.

Ces détecteurs fournissent donc une information sur le nombre de particules qui traversent le scintillateur par unité de temps : ce sont les coups par minutes (CPM) que mesure le compteur gamma.

Le compteur gamma « multipuits » est constitué de plusieurs puits indépendants (02 à 12) qui mesurent la radioactivité de chaque tube à essai comportant la réaction radioimmunologique. Chaque puits est formé par un couple cristal scintillant de petite taille (iodure de sodium activé au thallium : NaI [Tl]) et d'un photomultiplicateur (PM). Il n'y a pas d'interférence de comptage entre les différents puits, car l'énergie du rayonnement est faible et l'épaisseur des écrans en plomb réduit le bruit de fond.

Pour un bon fonctionnement de ces appareils, quelques contrôles sont à effectuer régulièrement :

- Mesure du bruit de fond (taux de comptage en absence de radioactivité) pour mettre en évidence d'éventuelles contaminations.
- Standardisation et calibration des différents puits en fonction du radio-isotope utilisé et l'énergie de ces rayons gamma.

Par nature, la désintégration radioactive est un phénomène aléatoire, le signal mesuré est donc affecté d'une erreur statistique de comptage. La théorie indique que l'écart-type de la distribution des mesures effectuées sur le même tube est égal à la racine carrée du nombre N d'impulsions mesurées.

Par exemple pour une mesure de 10 000 impulsions, l'erreur statistique de comptage est égale à 100 impulsions et l'intervalle de confiance à 95 % de cette mesure est compris entre 9800 et 10 200 impulsions. C'est pour obtenir une bonne statistique de comptage que le signal radioactif est, habituellement, accumulé et mesuré sur une durée d'une minute.

Avantages et inconvénients des méthodes utilisant un signal radioactif (tableau III)

Tableau III. Avantages et inconvénients des marqueurs radioactifs.

Avantages	Inconvénients
Faible encombrement stérique	Acquisition du signal longue
Signal direct et spontané	Durée de vie limitée des réactifs
Signal très spécifique	marqués (radiolyse)
Signal non perturbé par l'environnement physicochimique	Séparation de phases quasi obligatoire
Bonne reproductibilité	Contraintes législatives
	Détectabilité insuffisante
	Risque lié à la radioactivité

Le signal radioactif est utilisé aussi bien dans le cadre des méthodes par défaut d'anticorps (RIA) que des méthodes immunométriques (IRMA). Une des principales raisons de l'essor des radioimmunosages est leur aptitude à mesurer des concentrations extrêmement faibles d'analyte dans les liquides biologiques.

En ce qui concerne les dosages « sandwich » la limite de détection est déterminée par le niveau et la précision de la liaison non spécifique et par l'affinité de l'Ac marqué. La méthode IRMA permet d'atteindre des limites de détection bien plus basses que précédemment, de l'ordre de 10^{-16} mol/L.

Bien que les radioimmunosages n'utilisent que des quantités infimes de radioactivité, leur développement, en France comme dans d'autres pays, a été freiné par une réglementation stricte en rapport avec le problème de sécurité. Ces méthodes de dosage peinent à garder leur place, concurrencée par l'avènement des autres techniques d'immunoanalyse automatisées n'utilisant pas les marqueurs radioactifs tels que la fluorescence ou la chimiluminescence (tableau IV).

Tableau IV. Avantages et handicaps de la RID par rapport à d'autres méthodes de dosage.

Avantages	Handicaps
Systèmes ouverts	Durée de vie des réactifs
- libre choix des réactifs et fournisseurs	Inadaptation aux petites séries et à l'urgence
- menu quasi illimité (analytes courants, rares ou innovants)	Contraintes réglementaires
- accès aux valeurs de signal	- diplôme spécifique du biologiste
Méthode	- radioprotection (personnel, locaux)
- robuste	gestion des déchets
- adaptée aux grandes séries	Méthode peu répandue dans certains secteurs (maladies infectieuses, pharmacologie)
- souvent utilisée pour les dosages après extraction	Techniques peu automatisées
- seule disponible pour certains analytes	Méthode nécessitant une calibration lors de chaque série et la pratique habituelle des dosages en double
- ayant conduit à la mise en place d'une structure utile dans d'autres domaines de la biologie ou de la recherche (biologie moléculaire, autoradiographie, radioanalyse)	
- un coût raisonnable	

Le RID utilise des techniques éprouvées depuis de longues années et offre pour beaucoup d'analytes des avantages certains. Son emploi devrait être laissé au libre choix du biologiste, en fonction des impératifs du laboratoire.

PARTIE II : PRATIQUE

1. OBJECTIF :

Définir les intervalles de références de la TSH, FT4, FT3 et les valeurs limites de négativité pour les anticorps antiperoxydase (TPOAb) et les anticorps antithyroglobuline (TgAb) chez la population algérienne.

2. PROTOCOLE :

Cette étude consiste en deux étapes obligatoirement successives et intriquées. La première étape est la mesure des valeurs seuils des Anti-Tg et des Anti-TPO (**STEP-ONE**) qui seront utiles pour la deuxième étape pour la mesure des intervalles de référence de la TSH, FT3 et FT4 (**STEP-TWO**).

2.1 MATÉRIELS ET MÉTHODES

2.1.1 TYPE D'ÉTUDE :

C'est une étude descriptive transversale des paramètres biologiques thyroïdiens (TSH, FT4, FT3, TPOAb et TgAb) de la population algérienne adulte saine, ambulatoire.

2.1.2 POPULATION ÉTUDIÉE :

Selon les critères de la National Academy of Clinical Biochemistry (NACB), la population de référence doit être indemne de toute affection thyroïdienne, représentative d'une population algérienne adulte.

2.1.3 NOMBRE D'INDIVIDUS NÉCESSAIRES POUR L'ÉTUDE :

Selon les recommandations de L'International Federation of Clinical Chemistry (IFCC), un nombre supérieur à 120 individus est nécessaire pour déterminer des RI par une méthode non paramétrique avec les intervalles de confiance à 90 % (IC) des limites de

référence, ce nombre doit contenir suffisamment d'individus supplémentaires pour permettre un certain rejet lors de l'exclusion des individus non inclus¹⁴⁷.

Par conséquent, 122 sujets « apparemment sains » ont été recrutés pour STEP-ONE et 284 autres pour STEP-TWO, selon les critères de la NACB et l'ATA. Certains sujets admis dans STEP-ONE remplissant les critères d'inclusion de STEP-TWO ont été recrutés.

2.1.4 DURÉE DE L'ÉTUDE :

L'étude a commencé depuis le recrutement du premier patient de la STEP-ONE jusqu'à la mesure validée de la TSH pour STEP-TWO, de janvier 2015 à novembre 2016.

2.1.5 MÉTHODE D'ÉCHANTILLONNAGE :

La méthode utilisée est la méthode d'échantillonnage directe. Celle-ci implique la sélection des individus apparemment sains connus à partir d'une population générale en utilisant des critères spécifiques.

Cette méthode est préférable car elle permet une meilleure sélection de la population de référence et elle est très économique vu qu'elle évite de réaliser des dosages inutiles¹⁴⁸.

2.2 DÉROULEMENT DE L'ÉTUDE :

Les sujets volontaires ambulatoires non malades algériens se sont présentés à l'hôpital ou au service de médecine nucléaire (accompagnateur, donneur de sang, visiteur) ou sur convocation, à l'E.H.U Oran. Ce sont des sujets volontaires nationaux reçus à titre externe.

L'étude a été réalisée à l'EHU 1^{er} Novembre 1954 d'Oran. Le recrutement et les examens pratiqués sur les patients ont été faits au niveau de l'unité de biophysique du service de biophysique et de médecine nucléaire.

Le recrutement pour STEP ONE et STEP TWO a commencé en même temps, pour un gain de temps. L'âge minimum pour les sujets recrutés est de 15 ans car il correspond à l'âge de la prise en charge dans une structure hospitalière pour adulte en Algérie.

- On a recueilli sur un questionnaire électronique à questions directs pour les données d'identité relatives au patient, puis on a fait un interrogatoire à base de questions/réponses codées directement (annexe).
- Une palpation systématique du cou a été effectuée à la recherche de goitre ou non. Après consentement éclairé, les sujets remplissant les critères d'inclusion (pas d'antécédents personnels et familiaux d'affection thyroïdienne, pas notion de prises médicamenteuses) ont été retenus pour cette étude.
- Il n'y a aucune préparation des sujets dans l'étape préanalytique pour la réalisation des dosages biologiques.
- Les prélèvements sanguins ont été réalisés en respectant la procédure préanalytique. Le prélèvement a été réalisé préférentiellement au niveau des veines des avant-bras, d'autres sites sont recherchés en cas d'incapacité de prélèvement au niveau de l'avant-bras¹⁴⁹.
- Le prélèvement de 5 mL était recueilli sur un tube EDTA.
- On a séparé des éléments sériques par centrifugation à 4000 tours/min.
- Les plasmas ont été recueillis aliquotés, étiquetés pour garder la traçabilité, puis conservés par congélation à - 10 °C au maximum 15 jours jusqu'au jour du dosage¹⁵⁰.
- On a utilisé des trousse de radioimmunoanalyse (trousse radioactive utilisant l'iode 125 comme marqueur) de Beckman-Coulter pour les dosages hormonaux et des anticorps. Un contrôle de qualité de ces trousse doit être réalisé dans le laboratoire. Aucun conflit d'intérêt n'est reporté dans cette étude.
- Les tests de spécificité, de sensibilité et de reproductibilité de l'analyse sont précisés dans le manuel de dosage de chaque analyte.
- Pour des raisons de fiabilité des résultats, le dosage sérique de : TSH, TgAb, TPOAb, FT4 et FT3 a été réalisé par méthode de référence radioimmunologique (RID) en simple en respectant les protocoles d'utilisation et de contrôle du fabricant.
- Les sérums de contrôles (de la trousse de dosage) ont été introduits dans les différentes séries de dosage et ont été traités de la même façon que les prélèvements à doser.
- Les séries de dosages ont été validées après chaque dosage lorsque les valeurs de contrôle obtenues ont été justes.
- La lecture a été faite par un compteur gamma Berthold LBP2111 à 12 puits calibrés et standardisés.

Les dosages ont été réalisés comme suite :

- DOSAGE DE LA TSH ¹⁵¹:

Le dosage de la TSH est un dosage de type sandwich. La trousse utilise des anticorps monoclonaux de souris dirigés contre deux épitopes de la molécule. Dans des tubes recouverts d'un premier anticorps monoclonal de capture, les échantillons et les calibrateurs sont incubés en présence d'un second anticorps monoclonal marqué à l'iode 125 (Ac de révélation). Après incubation, le contenu des tubes est vidé par aspiration, les tubes sont rincés avec la solution de lavage donnée par le fabricant pour éliminer les anticorps marqués non fixés et la radioactivité liée est mesurée par un compteur gamma.

Tableau III. Mode opératoire de dosage de la TSH

Étapes 1 Répartition	Étape 2 Incubation	Étape 3 Premier lavage
Dans les tubes recouverts d'anticorps, distribuer successivement : 100 µL de calibrateur ou d'échantillon biologique	Incuber 1 heure à 18-25 °C avec agitation (>280 rpm)	Aspirer soigneusement le contenu de chaque tube

Étapes 4 Premier lavage	Étape 5	Étape 6 Incubation
Laver et aspirer deux fois avec 2 mL de solution de lavage	Ajouter 100 µL de traceur	Incuber 1 heure à 18-25 °C.

Étapes 7 Répartition	Étape 8 Incubation
Aspirer soigneusement le contenu de chaque tube (sauf les 2 tubes « cpm totaux ») Laver 2 fois avec 2 mL de solution de lavage.	Compter les cpm liés (B) et les cpm totaux (T) pendant 1 min.

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

Les valeurs attendues données par le fabricant sont : de 0,17 – 4,05 mUI/L pour les euthyroïdiens, résultat obtenu pour 127 sujets tchèques sans précision sur la répartition selon l'âge ou le sexe de cette population.

- **DOSAGE DES TgAb¹⁵² :**

C'est un dosage des auto-anticorps anti-Tg humains de type sandwich.

Les échantillons sériques ainsi que les calibrateurs sont tout d'abord incubés dans des tubes recouverts de thyroglobuline humaine. Les auto-anticorps, des échantillons, s'ils sont présents, se lient à la thyroglobuline immobilisée sur le tube. Après cette première incubation, les tubes sont lavés (afin d'éviter l'effet crochet). Après ce premier lavage, le traceur, de la protéine A marquée à l'iode 125, est ajouté. Après une seconde incubation, les tubes sont lavés par une solution de lavage pour éliminer les protéines marquées non fixées. Ensuite, la radioactivité est mesurée (tableau IV).

Tableau IV. Mode opératoire du dosage de la TgAb

Étapes 1 Répartition	Étape 2 1^{ère} Incubation	Étape 3 1^{er} lavage suivi par la distribution du traceur
Dans les tubes recouverts de thyroglobuline, distribuer successivement : 500 µL de tampon et 20 µL de calibrateur, de contrôle ou d'échantillon.	Incuber 90 min à 18-25 °C avec agitation (>280 rpm)	Aspirer soigneusement le contenu de chaque tube Laver 3 fois avec 3 ml de solution de lavage et aspirer

Étape 4	Étape 5 2^e Incubation	Étape 6 Comptage
Dans chaque tube, distribuer 500 µl de traceur	Incuber 1 heure à 18-25 °C avec agitation (>280 rpm)	Aspirer soigneusement le contenu de chaque tube (sauf les 2 tubes « cpm totaux ») Compter les cpm liés (B) et les cpm totaux (T) pendant 1 min.

Ici le fabricant indique que 95 % des résultats de dosage des auto-anticorps Anti-Tg effectués sur 270 échantillons étaient inférieurs à 30 UI/mL.

- DOSAGE DES ANTI-TPO ¹⁵³:

Le dosage des auto-anticorps anti-TPO est un dosage par défaut d'anticorps. Respectivement, les autoanticorps anti-TPO des échantillons à doser, des sérums de contrôles et des calibrateurs (ou standard) sont distribués dans des tubes recouverts d'anticorps monoclonaux anti-TPO et sont incubés avec de la TPO marquée à l'iode 125. Après incubation, le contenu du tube est vidé par aspiration et lavé par une solution de lavage fournie par le fabricant, puis la radioactivité liée est mesurée. Une courbe d'étalonnage est établie. Les valeurs des concentrations inconnues des différents échantillons dosés sont obtenues par interpolation à partir de la courbe d'étalonnage

Tableau V. Mode opératoire de dosage des TPOAb

Étapes 1 Répartition	Étape 2 Incubation	Étape 3 Comptage
Dans les tubes recouverts d'anticorps, distribuer successivement : 20 µL de calibrateur, de contrôle, ou d'échantillon biologique et 200 µL de traceur. Agiter.	Incuber 1 heure à 18-25 °C avec agitation (>280 rpm)	Aspirer soigneusement le contenu de chaque tube (sauf les 2 tubes « cpm totaux ») Laver avec 2 mL de solution de lavage. Compter les cpm liés (B) et les cpm totaux (T) pendant 1 min.

Les valeurs attendues indiquées par le fabricant et correspondant à 95 % des 442 échantillons dosés étaient inférieures à 12 UI/mL.

- DOSAGE DE LA FT4¹⁵⁴ :

Le dosage de la thyroxine libre est un dosage par défaut d'anticorps utilisant le principe de l'anticorps marqué. Les échantillons à doser ou les calibrateurs sont incubés en présence d'un anticorps monoclonal spécifique de la T4 et d'un analogue biotinylé de la thyroxine (ligand), dans les tubes recouverts d'avidine. Une concurrence s'établit entre la thyroxine libre de l'échantillon et le ligand pour la liaison à l'anticorps marqué. La fraction d'anticorps complexée au ligand biotinylé se fixe sur les tubes avidinés. Après incubation, le contenu du tube est vidé par aspiration, puis la radioactivité liée est mesurée. Une courbe d'étalonnage est établie et elle sert à déterminer par interpolation la concentration inconnue de l'échantillon.

Tableau VI. Mode opératoire dosage de la FT4

Étapes 1 Répartition	Étape 2 Incubation	Étape 3 Comptage
Dans les tubes revêtus, distribuer successivement : 25 µL de calibrateur ou d'échantillon et 400 µL de traceur et 100 µL de ligand. Agiter.	Incuber 1 heure à 18-25 °C avec agitation (>350 rpm)	Aspirer soigneusement le contenu de chaque tube (sauf les 2 tubes « cpm totaux ») Compter les cpm liés (B) et les cpm totaux (T) pendant 1 min.

Les valeurs de référence données par le fabricant : 11,5 – 23 pmol/L ont été définies au cours de dosages de la FT4 portant sur un total de 198 sujets euthyroïdiens.

- DOSAGE DE LA FT3¹⁵⁵ :

Le dosage de la FT3 est similaire au dosage de la FT4. Les échantillons sont incubés dans des tubes recouverts d'un analogue de la T3 (ligand) avec un anticorps monoclonal spécifique de la T3 marquée à l'iode 125. Après incubation, le contenu du tube est vidé par aspiration, puis la radioactivité liée est mesurée. Une concurrence s'établit entre la triiodothyronine libre de l'échantillon et le ligand pour la liaison à l'anticorps marqué. Après incubation, le contenu du tube est vidé par aspiration puis la radioactivité est mesurée dans un compteur gamma.

Tableau VII. Mode opératoire de dosage de la FT3.

Étapes 1 Répartition	Étape 2 Incubation	Étape 3 Comptage
Dans les tubes revêtus, distribuer successivement : 100 µL de calibrateur ou d'échantillon et 400 µL de traceur. Agiter.	Incuber 120 minutes à 18-25 °C avec agitation (>350 rpm)	Aspirer soigneusement le contenu de chaque tube (sauf les 2 tubes « cpm totaux ») Compter les cpm liés (B) et les cpm totaux (T) pendant 1 min.

Les valeurs de 2,5 – 5,8 pmol/L sont données à titre indicatif, pour les valeurs de référence de la FT3 définies pour une étude portant sur un total de 531 sujets euthyroïdiens.

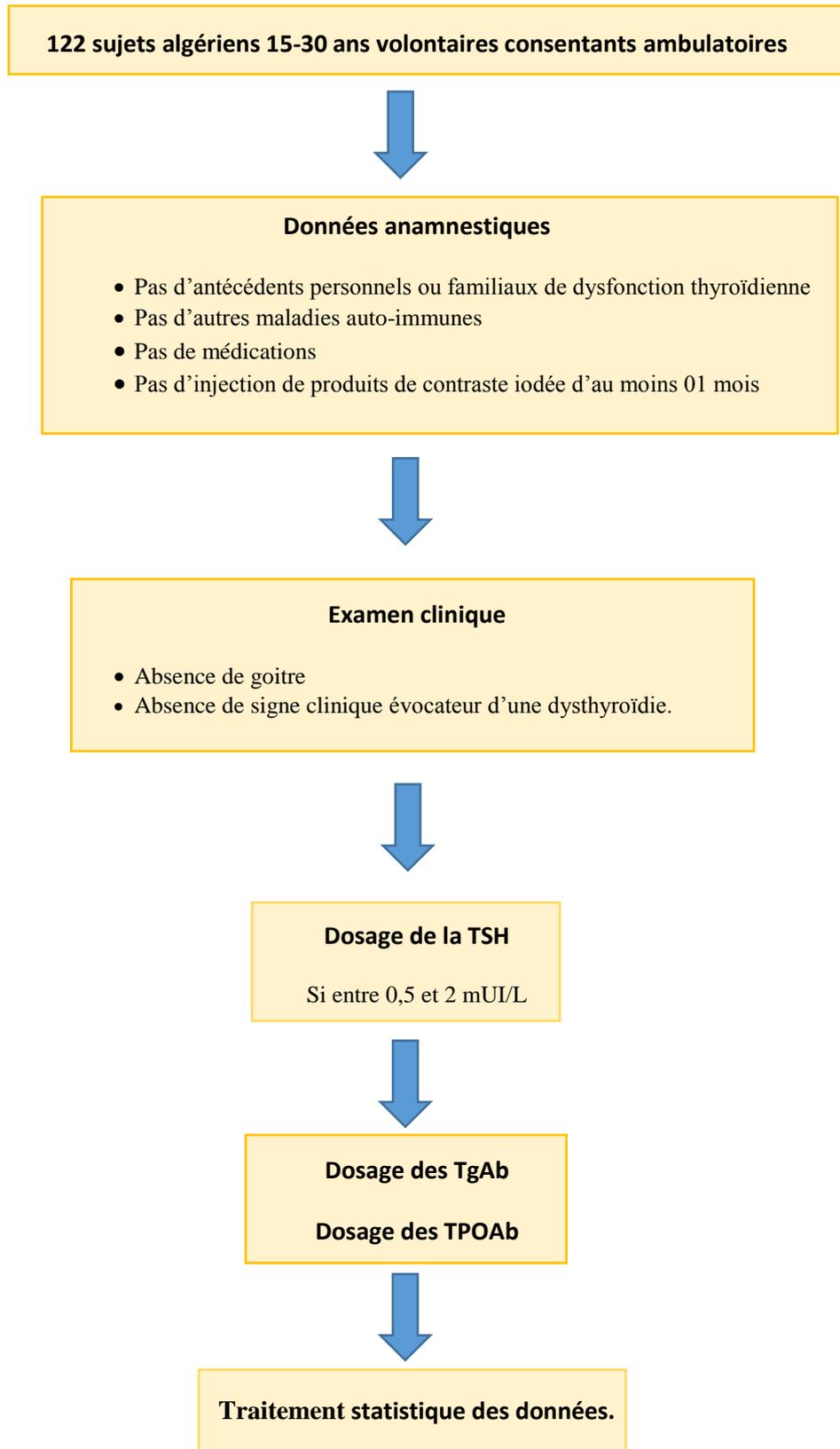


Diagramme de STEP ONE

284 sujets (homme/femme) algériens, 15- 65 ans, volontaires consentants ambulatoires



Données anamnestiques

- Pas d'antécédents personnels ou familiaux de dysfonction thyroïdienne
- Pas d'autres maladies auto-immunes
- Pas de médicaments.
- Consommation régulière de sels iodés alimentaire.
- Pas de grossesse en cours.
- Pas d'injection de produits de contraste iodée d'au moins 01 mois



Examen clinique

- Absence de goitre
- Absence de signe clinique évocateur d'une dysthyroïdie.



Dosage des TgAb et TPOAb

Si \leq aux valeurs seuils trouvés dans STEP ONE



Dosage de TSH

Dosage de FT4 et FT3



Traitement statistique des données.

Diagramme de STEP TWO

2.3 ÉTUDE STEP-ONE :

2.3.1 CRITÈRES D'INCLUSION :

La vérification de la santé des individus échantillonnés est basée sur les critères suivants :

(Voir organigramme STEP ONE)

- Sexe masculin.
- Age < à 30 ans révolus.
- $0,5 < \text{TSH} < 2 \text{ mUI/L}$
- Absence de goitre visible ou palpable
- Pas d'antécédents personnels ou familiaux de dysfonction thyroïdienne
- Pas d'autres maladies auto-immunes.
- Pas d'injection de produits de contraste iodée d'au moins 01 mois

2.3.2 CRITÈRES DE NON-INCLUSION :

- Patients non consentants.
- Tout bilan thyroïdien non réalisé dans notre laboratoire.

2.3.3 CRITÈRES D'EXCLUSION :

- Injection de produit de contraste iodé.

2.4 ÉTUDE STEP TWO:

Pour la sélection de la population de référence pour STEP TWO, on a utilisé les valeurs de positivité des TPOAb et des TgAb retrouvé dans STEP ONE. Dans cette étape les deux sexes sont pris en compte.

2.4.1 CRITÈRES D'INCLUSION : (voir diagramme STEP TWO)

- Age entre 15 et 65 ans.
- Pas d'anticorps Anti-TPO ou Anti-Tg positifs par une méthode sensible

- Pas d'antécédents personnels ou familiaux de dysfonction thyroïdienne
- Pas de goitre visible ou palpable
- Absence de médicaments.

2.4.2 CRITÈRE DE NON-INCLUSION :

- Patients non consentants.
- Tout bilan thyroïdien non réalisé dans notre laboratoire.

2.4.3 CRITÈRES D'EXCLUSION :

- Valeur Anti-TPO seule positive (calculée de l'étape 1)
- Valeur Anti-Tg seule positive (calculée de l'étape 1)
- Valeurs Anti-Tg et Anti-TPO positives

3. RECUEIL DES DONNÉES ET ANALYSE STATISTIQUE :

La totalité des informations de l'étude ont été recueillies dans un seul fichier numérique sous Excel® : les données anthropométriques, les données biologiques, les données anamnestiques et cliniques.

La méthode de calcul des différents paramètres passe par les étapes suivantes :

- Réalisation une mesure non paramétrique basée sur la médiane.
- Traitement statistique des données recueillies dans le logiciel Excel par MedCalc gratuit.
- Analyse des résultats entre les différents paramètres : TSH, TPOAb, TgAb pour STEP ONE.
- Établir les limites de référence pour les anticorps Anti-TPO et Anti Tg calculés au 97,5^{ième} percentile. Par définition, le 97,5^{ième} centile de n valeurs classées par ordre croissant comme étant la valeur de rang (R) égale à $97,5 (n + 1) / 100$, arrondi à l'entier le plus proche de la valeur correspondant à ce rang.
- Analyse des résultats des paramètres TSH, FT3, FT4 et établir les intervalles de référence pour ces hormones dans l'intervalle entre le 2.5 et le 97.5 percentile ; un intervalle contenant 95 % des échantillons selon que la distribution soit normale

ou non¹⁵⁶ pour STEP TWO. Ici, le 2,5^{ième} centile de n valeurs classées par ordre croissant comme étant la valeur de rang (R) égale à $2,5 (n + 1) / 100$.

NB : L'étude des paramètres descriptifs et des dosages effectués est réalisée en prenant l'ensemble de la population sans répartition en fonction du sexe ou des classes d'âges, comme cela est utilisé dans la plupart des études de ce genre.

4. RÉSULTATS :

4.1 CARACTÉRISTIQUE ANTHROPOMÉTRIQUE POUR STEP ONE

4.1.1 NOMBRE

Pour cette partie, 122 sujets ont été admis pour l'étude. Tous de sexe masculin.

L'échantillon ne comporte que des sujets de sexe masculin, conformément au protocole du NACB pour le calcul des valeurs seuils de la TPOAb et de la TgAb. (Figure 15).

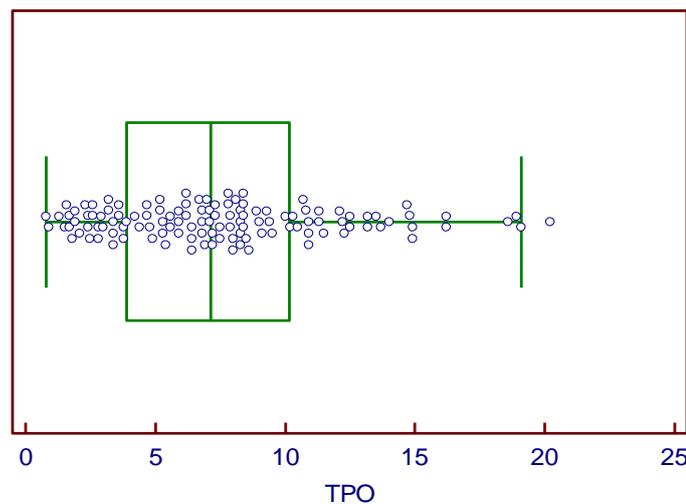


Figure 15. Boîte à moustache de la répartition des TPOAb

4.1.1 AGE

L'âge moyen de l'échantillon est 23,05 ans et la médiane peut y être superposée à 23 ans ce qui témoigne de l'homogénéité de l'échantillon. Les extrêmes sont entre 15 et 29 ans révolus.

Tableau VIII. Étude de la distribution par âge.

Âge (Ans)	MOYENNE	MÉDIANE	EXTRÊMES
Homme	23,05	23	15-29

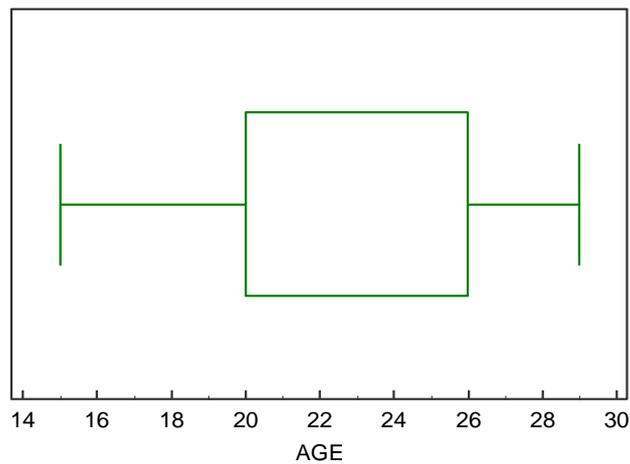


Figure 16. Boîte à moustache de la répartition des âges.

4.1.2 POIDS-TAILLE

Les paramètres de distribution, moyenne et médiane de l'échantillon selon le poids sont proches (74,41 /74 kg environ), même constatation pour la taille (173,01/175 cm). (Tableau X et XI).

Tableau IX. Paramètre de distribution des sujets selon le poids

Poids (Kg)	MOYENNE	MÉDIANE	EXTRÊMES
Homme	74,41	74	55-88

Tableau X. Paramètre de distribution des sujets selon la taille

Taille (cm)	MOYENNE	MÉDIANE	EXTRÊMES
Homme	173,01	175	158-186

4.1.3 RÉPARTITION SELON LES WILAYAS :

La majeure partie des sujets recrutés sont originaires de la wilaya d'Oran (60,66 %), les autres proviennent des wilayas de l'Ouest (limitrophe d'Oran : Tlemcen, Mostaganem, Mascara et Ain Temouchent) et les wilayas du littoral, du centre, de l'Est, et du Sud du pays (figure. 16). L'échantillon est représenté par de 15 wilayas/48.

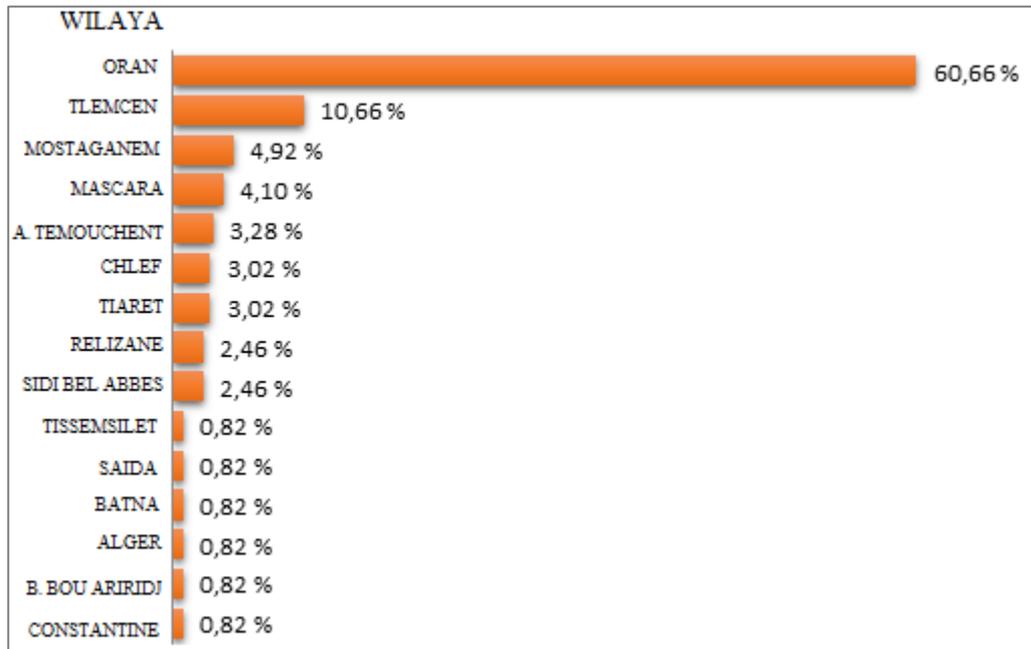


Figure 17. Provenance des sujets

4.2 STATISTIQUE DESCRIPTIVE DES PARAMÈTRES ÉTUDIÉS

4.2.1 TSH

Pour la distribution des valeurs de la TSH on retrouve une moyenne à 1,34 $\mu\text{UI/mL}$ et une médiane à 1,32 $\mu\text{UI/mL}$ (figure 18). Les extrêmes sont imposés par les critères de recrutement des sujets.

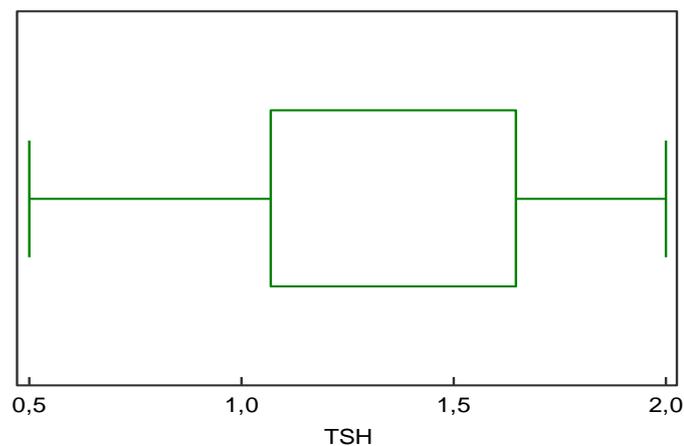


Figure 18. Boîte à moustache de la distribution de la TSH.

L'étude de la distribution de l'échantillon ne suit pas une loi normale ($p = 0,0014$) selon test de Shapiro-Wilk $W = 0,9611$ ($p = 0,0014$).

Tableau XI. Paramètres de distribution statistique de la TSH.

	MOYENNE	MEDIANE	EXTREMES	W
TSH (μ UI/mL)	1,34	1,32	0,5-2	0,9611

4.2.2 TPOAb

Le test de normalité pour les TPOAb ne retrouve pas une distribution normale, le test Shapiro-Wilk donne un $W = 0,9549$ ($p = 0,0004$) (Figure 19).

Tableau XII. Paramètres de distribution pour les TPOAb

	MOYENNE	MÉDIANE	EXTRÊMES	W
TPOAb (UI/mL)	7,54	7,15	0,8-20,2	0,9549

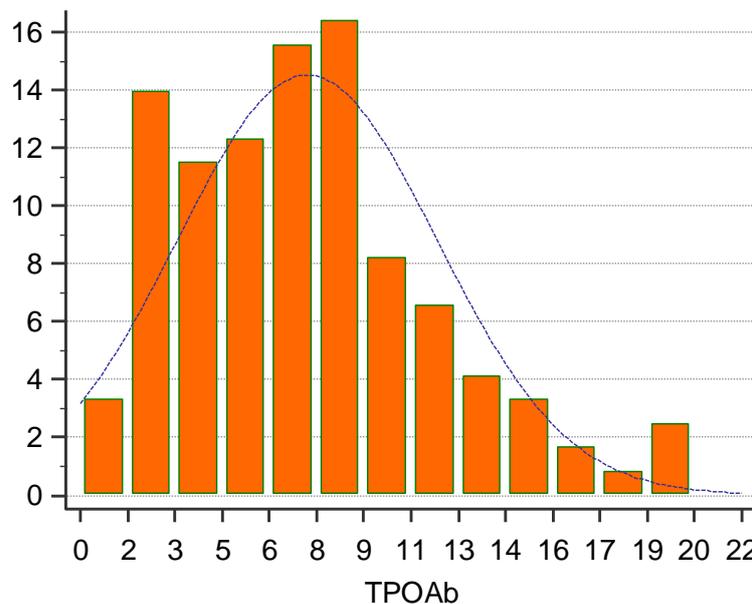


Figure 19. Comparaison à une loi normale pour les TPOAb

4.2.3 TgAb

La distribution des TgAb rejette aussi la normalité avec un test de Shapiro-Wilk $W = 0,7679$ ($p < 0,0001$) (Figure 20). La moyenne 4,85 UI/mL est distinctement différente de la médiane qui est à 9,09 UI/mL.

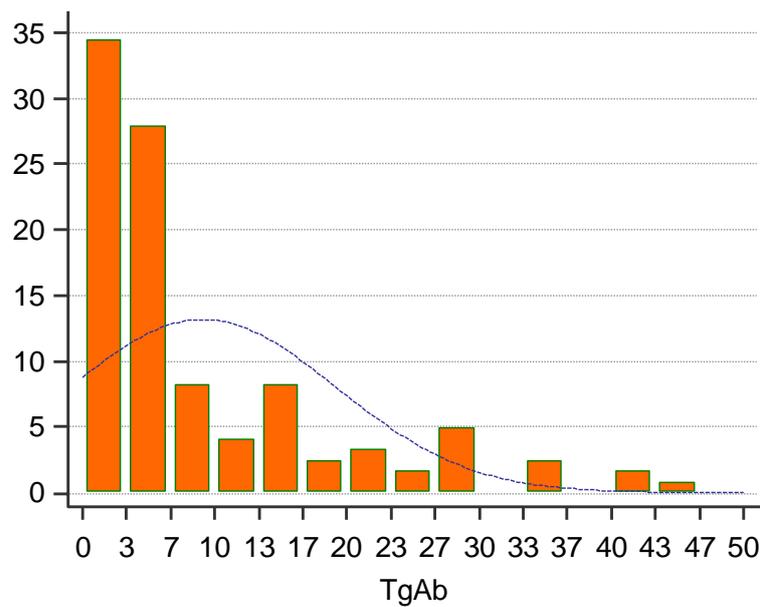


Figure 20. Comparaison à une loi normale pour les TgAb.

Tableau XIII. Paramètres de distribution pour les TgAb

	MOYENNE	MÉDIANE	EXTRÊMES	W
TgAb (UI/mL)	4,85	9,09	0,4-45,1	0,7679

4.2.4 CORRÉLATION TSH-TPOAb

On ne retrouve pas de corrélation entre les résultats des TSH dosées et les valeurs des TPOAb ($R = 0,08$). Les valeurs des différents dosages ne sont pas liées.

Tableau XIV. Corrélation entre TSH et TPOAb.

	R	<i>p</i>	NB
CORRÉLATION TSH /TPOAb	0,083	0,363	122

4.2.5 CORRÉLATION TSH-TgAb

La corrélation entre le taux de TSH et des TgAb dans les sérums des patients est nulle ($R = -0,051$), le signe négatif dans cette corrélation est considéré comme non significatif. Dans ce domaine de l'étude, les deux paramètres sont indépendants chez les sujets indemnes de toute pathologie thyroïdienne (tableau XVI).

Les anticorps antithyroïdiens TgAb et TPOAb sont retrouvés à des valeurs quasi nulles ou faibles, car l'échantillon ne comporte que des sujets considérés comme sains. Leurs présences ou leurs variations minimales ne permettent pas un changement des taux de la TSH.

Tableau XV. Corrélation entre TSH et TgAb

	R	<i>p</i>	Nombre
CORRÉLATION TSH / TgAb	-0,051	0,571	122

4.2.6 CORRÉLATION TPOAb-TgAb

On retrouve une corrélation modérée entre les valeurs des TgAb et des TPOAb ($R = 0,29$).

Tableau XVI. Corrélation entre TPOAb et TgAb.

	R	<i>p</i>	Nombre
CORRÉLATION TPOAb /TgAb	0,29	0,001	122

4.3 CARACTÉRISTIQUE ANTHROPOMÉTRIQUE POUR STEP TWO

4.3.1 NOMBRE

Dans cette étape, on a recruté 284 sujets selon les critères d'inclusion proposés par la NACB pour le calcul des intervalles de référence de la TSH, FT3 et FT4.

On a 176 hommes (61,98 %) et 108 femmes (38,02 %) (Figure 21), avec un sex-ratio H/F à 1,6.

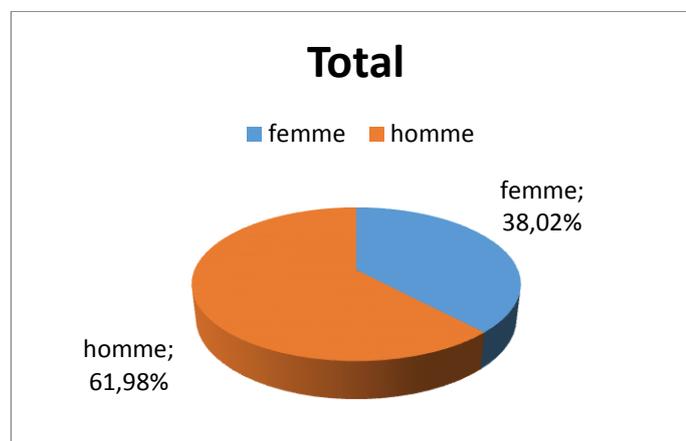


Figure 21. Répartition de l'échantillon selon le sexe

4.3.2 AGE

L'intervalle des extrêmes d'âges entre 15 et 67 ans est exhaustif et comprend différentes classes d'âge pour garder la représentativité de l'échantillon. L'âge moyen de la population étudiée est de 30,78 ans et la médiane est de 28 ans.

Tableau XVII. Étude de la distribution par âge

Âge (Ans)	MOYENNE	MÉDIANE	EXTRÊME
TOTAL	30,78	28	15-67

4.3.3 POIDS-TAILLE

Les paramètres de distribution comme la moyenne et la médiane de l'échantillon selon le poids sont proches (74,23 /74 kg environ), une constatation similaire est faite pour la taille (170,7/170 cm).

Ces deux paramètres n'ont pas sensiblement changé par rapport à l'étude précédente STEP ONE. (Tableau XIX et XX).

Tableau XVIII. Paramètre de distribution des sujets selon le poids

Poids (Kg)	MOYENNE	MÉDIANE	EXTRÊME
TOTAL	74,23	74	55-88

Tableau XIX. Paramètre de distribution des sujets selon la taille

Taille (cm)	MOYENNE	MÉDIANE	EXTRÊME
TOTAL	170,7	170	66-190

4.3.4 RÉPARTITION SELON LES WILAYAS :

Toutes les régions du pays sont représentées (23 wilayas/48. Pour l'Ouest (Tlemcen, Mostaganem, Sidi bel Abbes), pour l'Est (Batna, Msila, et Constantine), pour le Centre (Alger, Mila, Bordj Bou Arreridj et Médéa), et le Sud (Béchar, Tissemsilet, Biskra et El Bayed).

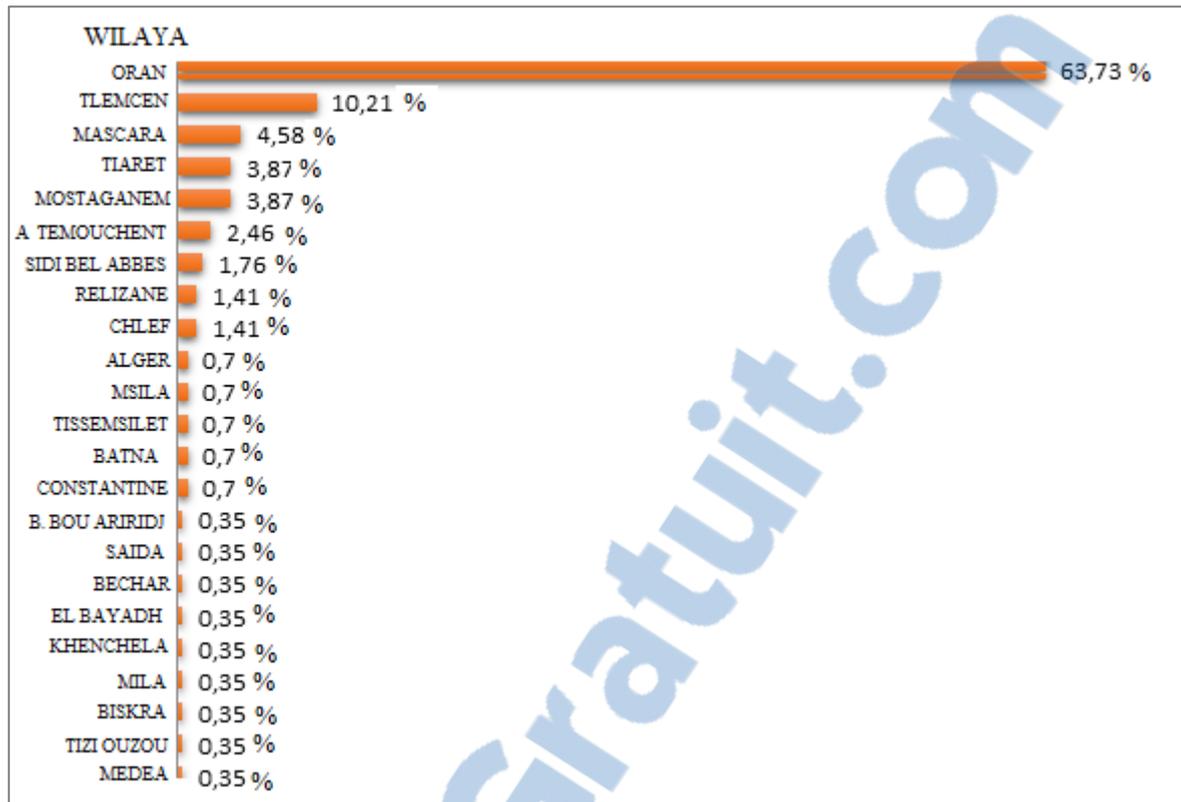


Figure 22. Répartition géographique des sujets

4.4 STATISTIQUE DESCRIPTIVE DES PARAMÈTRES ÉTUDIÉS

4.4.1 TSH

Les valeurs de la TSH oscillent autour d'une valeur moyenne de 1,65 $\mu\text{UI/mL}$ alors que la médiane est de 1,47 $\mu\text{UI/mL}$ (tableau XXIII).

Tableau XX. Paramètres de distribution statistique de la TSH.

	MOYENNE	MEDIANE	EXTREMES	W
TSH ($\mu\text{UI/mL}$)	1,65	1,47	0,25-4,86	0,9277

Le test de Shapiro-Wilk pour la normalité retrouve une valeur $W = 0,9277$ ($p < 0,0001$). La distribution des valeurs de la TSH ne permet pas d'utiliser la loi normale même avec une transformation logarithmique.

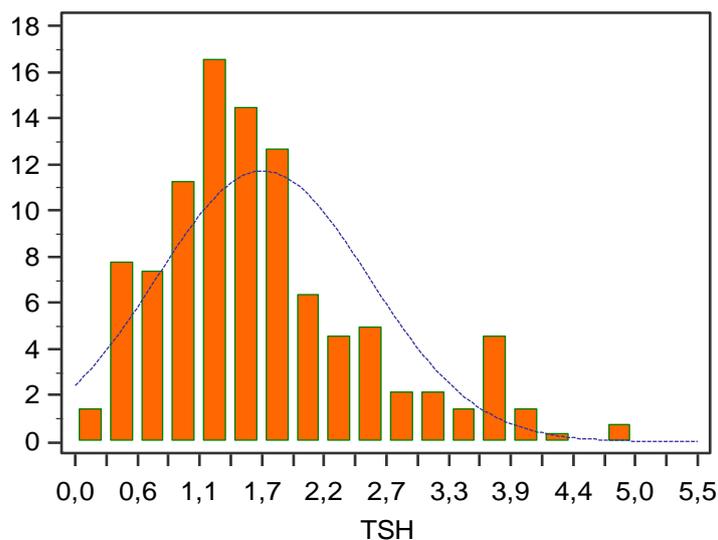


Figure 23. Étude de la distribution de la TSH.

4.4.2 FT4

Pour la FT4, seulement 256 échantillons ont été pris en compte sur 284. Parce que la quantité de sérum était insuffisante pour réaliser un dosage adéquat.

La moyenne et la médiane sont sensiblement proches (15,32 pmol/L et 15,1 pmol/L respectivement).

Tableau XXI. Paramètres de distribution statistique de la FT4.

	MOYENNE	MÉDIANE	EXTRÊMES	W	Nombre	p
FT4 (pmol/L)	15,32	15,1	6,4-23	0,9810	256	0.014

L'étude de la normalité de la distribution des valeurs de la FT4 rejette la loi normale $W= 0,9810$ ($p = 0,014$) (figure 24).

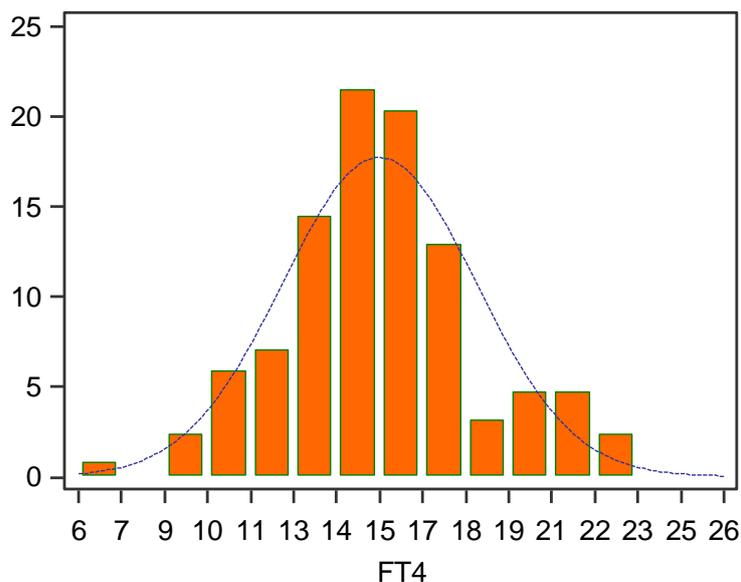


Figure 24. Étude de la distribution de la FT4.

4.4.3 FT3

Les paramètres de distribution pour la FT3 sont très différents (4,71 pmol/L pour la moyenne et 1,4 pmol/L pour la médiane) (tableau XXIII).

Tableau XXII. Paramètres de distribution statistique de la FT3.

	MOYENNE	MEDIANE	EXTREMES	W	Nombre	ρ	
FT3 (pmol/L)	4,71	1,4	1-8,3	0,9899	229	0.07	

La distribution des valeurs de la FT3 accepte la normalité (figure 25)

Pour une homogénéité des calculs pour les intervalles de références, on utilisera la méthode non paramétrique même pour la FT3.

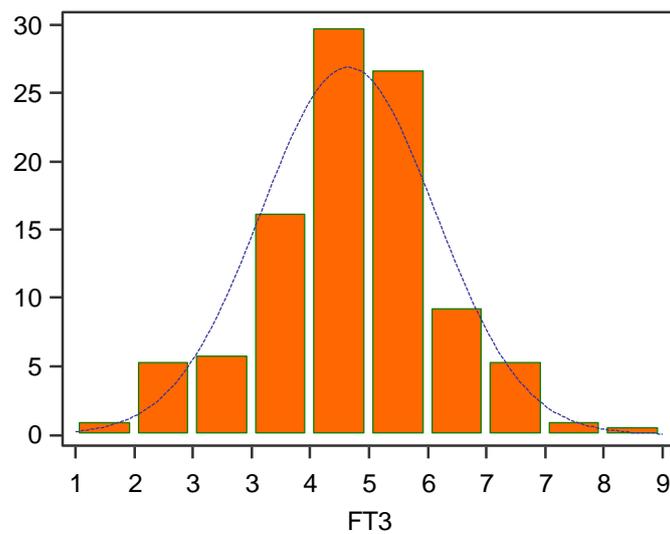


Figure 25. Étude de la distribution de la FT3.

4.4.4 TPOAb- TgAb

Les deux distributions pour la TgAb et la TPOAb ne suivent pas la loi normale selon le test de Shapiro-Wilk. Leurs moyennes sont identiques (7,1 pmol/L), mais leurs médianes sont différentes (6,9 UI/mL pour les TPOAb et 4,3 UI/mL pour les TgAb) (tableau XXIV et XXV)

Tableau XXIII. Paramètres de distribution statistique des TPOAb

	MOYENNE	MEDIANE	EXTREMES	W	<i>p</i>
TPOAB (UI/mL)	7,1	6,9	0,1-18,2	0,9775	0,0002

Tableau XXIV. Paramètres de distribution statistique des TgAb.

	MOYENNE	MEDIANE	EXTREMES	W	<i>p</i>
TgAb (UI/mL)	7,1	4,3	0,1-35,6	0,7609	<0,0001

4.4.5 CORRÉLATION TSH – FT4

On retrouve une corrélation assez forte entre la FT4 et la transformation logarithmique des valeurs de la TSH. Le signe négatif du $R = -0,412$ signifie que la corrélation est inverse (tableau XXVI).

Tableau XXV. Corrélation entre Log TSH et FT4.

	R	<i>p</i>	TAILLE ÉCHANTILLON
CORRÉLATION Log TSH /FT4	- 0,412	<0,0001	256

4.4.6 CORRÉLATION TSH – FT3

La corrélation entre le Log TSH et les valeurs de la FT3 correspond à une corrélation modérée inverse (tableau XXVII).

Tableau XXVI. Corrélation Log TSH et FT3

	R	<i>p</i>	TAILLE ÉCHANTILLON
CORRÉLATION Log TSH /FT3	- 0,2391	0,0003	229

4.4.7 CORRÉLATION FT4 – FT3

Les valeurs du dosage de la FT4 et de la FT3 présentent une corrélation modérée positive.

Tableau XXVII. Corrélation entre la FT4 et la FT3

	R	<i>p</i>	TAILLE ÉCHANTILLON
CORRÉLATION FT4/FT3	0,2359	0,0003	227

4.5 PRÉSENTATION DES RÉSULTATS DE CALCUL :

4.5.1 CALCUL DES VALEURS SEUILS POUR STEP ONE :

Les résultats de l'étude STEP ONE, calculés selon une méthode non paramétrique, suivant le protocole proposé dans le document CLSI C28-A3 du CLINICAL & LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI) est inclus dans le logiciel MEDCALC.

Tableau XXVIII. Résultats des dosages de TPOAb et TgAb.

	Non-parametric percentile method (CLSI C28-A3)
TPOAB	1,31 - 18,87 UI/mL
TGAB	0,62 - 41,52 UI/mL

Seules les valeurs supérieures sont significatives et ont un rôle indicatif sur le seuil supérieur des valeurs des TPOAb et des TgAb chez des sujets sains.

Pour les TPOAb la valeur seuil est 18,87 UI/mL, pour les TgAb elle est égale à 41,52 UI/mL. Les résultats de dosages inférieurs à ces valeurs seuils sont considérés comme négatifs. Ces valeurs ont été utilisées lors de l'échantillonnage pour STEP TWO.

4.5.2 CALCUL DES INTERVALLES POUR STEP TWO :

La même méthode de calcul statistique est utilisée dans STEP TWO. L'intervalle de référence pour la TSH est de 0,29 à 3,84 μ UI/mL (tableau XXX).

Tableau XXIX. Intervalles de référence de la TSH.

	Non-parametric percentile method (CLSI C28-A3)
TSH	0,29 - 3,84 μ UI/mL

Pour la FT4 les résultats de calcul donnent un intervalle de confiance compris entre 9,58 et 22,18 pmol/L dont la conversion donne 0,74 à 1,72 en ng/dL (1 pmol/L = 0,77 ng/dl). Alors que pour la FT3 l'intervalle de référence est de 2,37 à 7,1 pmol/L correspondant à des valeurs de 0,15 à 0,46 en ng/dl (1 pmol/L = 0,0651 ng/dl) (tableau XXXI).

Tableau XXX. Intervalle de référence pour la FT4 et la FT3.

	Non-parametric percentile method (CLSI C28-A3)
FT4	9,58 - 22,18 pmol/L
FT3	2,37 - 7,1 pmol/L

Le pmol/L et le ng/dL étant les deux unités les plus utilisées pour exprimer les concentrations des hormones thyroïdiennes libres.

5. DISCUSSION :

5.1 CHOIX DE L'ÉTUDE :

Le statut thyroïdien normal ou pathologique est largement évalué au niveau dans les laboratoires hospitaliers en Algérie. Les paramètres les plus indiqués pour évaluer le statut thyroïdien sont : TSH, FT3, FT4, TPOAb et TgAb. Ils sont dosés selon un algorithme bien établis évitant un gaspillage couteux des réactifs¹⁵⁷. Les autres paramètres tels : T4 total, T3 total, TRAb, la thyroglobuline et la calcitonine ont d'autres indications spécifiques et ils n'ont pas étudiés.

Réaliser une étude des intervalles de référence est une nécessité pour améliorer la prise en charge des pathologies thyroïdiennes en palliant des discordances clinico-biologiques d'un côté et en réduisant les coûts dus aux erreurs diagnostique et thérapeutique de l'autre.

En 1996, l'American Association for Clinical Chemistry (AACC) et la NACB ont émis les premières recommandations pour le diagnostic et la surveillance des maladies thyroïdiennes. En 2000 puis 2003 et 2005, elles ont publié des mises à jour en faisant participer les associations de recherche sur la thyroïde en Amérique du Nord, d'Amérique du Sud, d'Asie, d'Europe et d'Océanie dans le but d'établir des recommandations faisant l'objet de consensus au niveau mondial.

Certains laboratoires utilisent soit les intervalles de référence proposés par les fournisseurs déterminés à partir d'une cohorte de population « saine » du pays de fabrication, soit ils se calent sur les valeurs proposées par les recommandations consensuelles admises dans leurs pratiques.

En l'Algérie, une étude originale de ce genre, est obligatoire et doit être réalisée dans chaque laboratoire avec prise en compte du rapport qualité prix des trousse de dosages utilisées afin de donner des résultats cohérent et fiable dans la prise en charge des pathologies thyroïdiennes.

5.2 CHOIX DE LA MÉTHODE D'ÉCHANTILLONNAGE :

Le calcul des valeurs seuils et des intervalles de référence peut se faire selon deux méthodes d'échantillonnage différentes.

- **Méthode indirecte :**

Aussi dite, méthode *a posteriori*. L'échantillonnage se fait à partir de grandes bases de données des laboratoires et nécessite plus de 10 000 échantillons. Cette méthode paraît simple, mais l'inconvénient réside dans le risque d'inclusion des valeurs de sujets « malades » ou « à risque », surtout quand les informations recueillies sont incomplètes¹⁵⁸.

Aussi, l'étude statistique pour l'obtention des valeurs et des intervalles de référence, nécessite la collaboration d'un statisticien expérimenté et l'usage un logiciel adapté.

Le comité IFCC/CLSI est très réservé quant à l'usage de cette technique qui peut conduire à une estimation grossière des intervalles de référence¹⁵⁹.

- **Méthode directe :**

Lorsque les critères d'inclusion, d'exclusion et de partition sont bien définis avant la sélection des individus de référence, on parle de sélection *a priori*. Ces critères sont basés sur les données de la littérature¹⁶⁰ ou sur les recommandations et les consensus mondiaux, comme dans le cas de cette étude où le processus de sélection est mis en place avant le prélèvement sanguin¹⁶¹.

Cette méthode permet un meilleur contrôle de l'échantillonnage, une maîtrise dans l'inclusion des sujets supposés « sains » et une rigueur dans les calculs statistiques¹⁶². Pour cela, c'est cette méthode qui a été choisie.

Pour assurer la validité d'une étude non paramétrique, il faut recruter au minimum 120 sujets¹⁶³. Pour la représentativité de l'échantillon, les sujets sont recrutés des différentes wilayas de l'Algérie.

- **Choix des critères de sélection**

Certains auteurs ont proposé pour la sélection des individus sains, l'absence d'anomalies morphologique (goitre, nodules, micronodules) de la thyroïde lors d'un examen échographique¹⁶⁴.

Une étude récente en Europe en 2008, faite par Hamilton et coll.¹⁶⁵ réalisée avec une exclusion des sujets présentant des anomalies échographiques de la thyroïde a montré que la limite supérieure de l'intervalle de référence de la TSH est restée identique par rapport à l'étude américaine NHANES III (4,1 μ UI/mL et 4,12 μ UI/mL respectivement). Ce résultat semble suggérer que les valeurs et les intervalles de référence pour les hormones

thyroïdiennes ne sont pas influencés par l'exclusion des patients avec des anomalies échographiques thyroïdiennes.

Afin d'éviter un biais de sélection, on n'a pas prévu de réaliser des échographies thyroïdiennes (qui est un examen manipulateur dépendant) pour nos sujets. Dans cette étude, on s'est conformé au critère d'inclusion et d'exclusion proposés par la NACB.

5.3 CHOIX DE LA MÉTHODE DE CALCUL STATISTIQUE :

Plusieurs méthodes statistiques peuvent être utilisées selon leurs distributions ou selon le nombre d'individus sélectionnés. Deux méthodes statistiques différentes sont décrites dans les documents originaux de l'IFCC¹⁶⁶ :

La méthode paramétrique :

Applicable à des populations dont la distribution est normale (« gaussienne »). En cas de doute sur la nature de la distribution, les tests de normalité permettent de trancher ; s'ils sont négatifs, l'une ou l'autre transformation statistique afin de les normaliser. Ensuite, on vérifie que la nouvelle distribution suit une loi normale.

Cette méthode est peu utilisée en biologie vu que les distributions observées étant le plus souvent asymétrique.

La méthode non paramétrique :

Cette méthode (recommandée par l'IFCC) n'exige en rien des lois de probabilités et ne requiert pas de compétence en statistique. Elle est toujours applicable sans prendre en compte la distribution de la population. Elle nécessite cependant une sélection soignée des individus de référence et un nombre d'individus supérieur à 120 dans sa totalité ou pour chaque classe s'il y a répartition.

C'est cette méthode qu'on a utilisée dans cette étude. Toutefois, l'étude réalisée dans STEP ONE et STEP TWO a été faite sans répartition par âge et par sexe, vu que le nombre d'individus par classe était insuffisant (inférieur à 120) et ne permettait pas de faire des calculs et des comparaisons.

La répartition par âge pour l'étude STEP ONE et STEP TWO n'a pas d'intérêt sur le plan clinique, car les limites recherchées correspondent à l'intervalle de référence des adultes. Quant à la répartition par sexe pour STEP TWO, le calcul statistique des intervalles de

référence par classe (homme/femme) n'est pas possible, car le nombre de femmes recrutées est insuffisant (figure 21). De plus, la plupart des laboratoires proposent des intervalles de référence pour la TSH, FT4, FT3, TPOAb et TgAb sans répartition par âge ou par sexe¹⁶⁷, exception pour les valeurs pédiatriques.

Le choix de recrutements par genre n'est pas spécifié et il n'y a aucune recommandation dans ce sens. Le sex-ratio pour STEP TWO (1,6 homme/femme) n'influence pas les résultats.

5.4 DISCUSSION DES RÉSULTATS :

Les données de l'ensemble des deux études ont été utilisées pour établir les valeurs de référence des bilans thyroïdiens (TSH, FT4 et FT3) selon les recommandations de l'IFCC¹⁶⁸ après avoir établi les seuils de positivité des TPOAb et des TgAb. Le tableau suivant regroupe les valeurs de référence du fournisseur des trousse de dosage et les valeurs déterminées dans cette étude.

Tableau XXXI. Intervalles de référence pour la TSH

TSH	Limite inférieure	Limite supérieure	Effectif
Étude	0,29	3,84	248
Beckman-Coulter	0,17	4,05	127
Consensus européen	0,3	3,6	ND
Recommandation USA	0,3	2,5	ND

Les autres études les plus pertinentes sont comprises dans le Tableau XXXIII.

Tableau XXXII. Principales études sur les intervalles de références.

Limite inférieure (µUI/mL)	Limite supérieure (µUI/mL)	Auteurs	Caractéristiques de la population
0,58	4,07	Jensen et al.	Selon NACB
0,28	3,35	Grossi et al.	RELAB project
0,30	3,63	Kratzsch et al.	Donneurs de sang
0,40	3,77	Kratzsch et al.	Selon NACB
0,11	3,35	Zöphel et al.	Selon NACB
0,43	3,69	Ferré-Masferrer et al	
0,30	2,5	Völzke et al	
0,30	2,5	Lee, Spencer et al, Hollowell et al.	A partir des échantillons de NHANES
0,64	4,7	Friis-Hansen et Hilsted	Individus TPOAb et TgAb positifs exclus

La démonstration que l'harmonisation des méthodes de dosage de la TSH minimise avec succès les différences entre les méthodes¹⁶⁹ et suggère que les méthodes immunométriques restent les meilleurs¹⁷⁰.

Plusieurs facteurs influencent les limites de référence des intervalles de la TSH, en particulier la limite supérieure (97,5^{ème} centile). Un facteur clé affectant la limite supérieure est la rigueur utilisée pour éliminer les individus présentant une auto-immunité thyroïdienne¹⁷¹. D'autres facteurs sont liés à la démographie de la population, comme le sexe, l'origine ethnique, la consommation d'iode, taille, et le tabagisme⁴⁰.

L'âge peut être un facteur majeur influençant la limite supérieure de la TSH conduisant à suggérer que les limites de référence doivent être proposées selon l'âge, mais ceci rendra toutes études difficiles à réaliser (échantillonnage et coût plus grand). En plus, la relation de TSH avec l'âge est aussi complexe. La plupart des études ont montré une augmentation de la TSH avec l'âge¹⁷² alors que d'autres études n'ont rapporté aucun changement ou une diminution de la TSH avec le vieillissement¹³³.

L'étude NHANES III suggère qu'il n'apparaît pas nécessaire, en pratique clinique, d'ajuster l'intervalle de référence pour l'âge, le sexe et l'appartenance ethnique en dépit de modestes différences^{173,174}.

En voulant être plus exhaustif, on a incorporé des sujets de tous âges sans évaluer les changements des paramètres selon l'âge.

D'autres auteurs n'utilisent pas les limites des valeurs de référence, mais cherchent des valeurs limites seuils pour décider de la démarche de prise en charge de leurs patients^{175,176}. La valeur seuil pour traiter ou ne pas traiter les hypothyroïdies devrait être recherchée¹⁷⁷.

En comparant les résultats de l'intervalle de la TSH avec celle de la trousse de dosage, il apparaît que l'intervalle présenté [0,17- 4,2] $\mu\text{UI/mL}$ est plus large que l'intervalle de étudié [0,29 – 3,84] $\mu\text{UI/mL}$. Ceci rend compte, en premier lieu de la nécessité de réaliser un intervalle de référence propre à la population algérienne.

Ce décalage d'intervalle est dû à une variabilité interindividuelle de la TSH et à l'intégration – dans les autres études- d'un certain nombre de sujets apparemment sains, mais ayant des pathologies thyroïdiennes infracliniques¹⁷⁸.

Les résultats de l'étude sont très proches des valeurs de études européennes lorsqu'elles sont faites dans les mêmes conditions de recrutement sans intégration de l'échographie (Tableau XXXIII). Une différence est rencontrée pour la limite supérieure lorsque l'examen ultrasonographique est introduit pour la détermination de sujets sains (2,5 μ UI/mL).

Les résultats obtenus lors des études de grandes populations sont sensiblement différents. Dans la NHANES III, enquête menée sur un échantillon représentatif de la population des États-Unis (17 353 personnes âgées de plus 12 ans), l'intervalle de référence de la TSH calculé chez 13 334 personnes n'ayant pas d'antécédents thyroïdiens ni auto-immunité thyroïdienne, est situé entre 0,45 à 4,12 μ UI/mL avec une médiane de 1,39 μ UI/mL.

Dans la cohorte française où la TSH a été déterminée chez 2871 hommes et 4110 femmes sélectionnées sur des critères moins rigoureux (sans exclusion des individus TPOAb et TgAb positifs), la limite de la TSH au 97,5^{ème} percentile est de 4,5 μ UI/mL avec une médiane à 1,45 μ UI/mL, celle de la limite inférieure est de 0,4 μ UI/mL¹⁷⁹.

La limite inférieure de référence de la TSH (2,5^{ème} centile) se rapproche de 0,3 - 0,4 μ UI/mL et est assez indépendante de la méthode utilisée. La limite inférieure trouvée (0,29 μ UI/mL) reste similaire aux différentes études européennes et américaines^{180,181}.

Les discordances portent sur la limite supérieure et non sur la limite inférieure ou sur la médiane, un intervalle de 0,4 à 4 μ UI/mL a été proposé et une médiane à 1,5 μ UI/mL, arguant que les études NHANES III et les autres études européennes n'étaient pas gaussiennes dans les grandes populations.

La limite supérieure retrouvée dans notre étude ne porte pas à controverse. Elle est de 3,84 μ UI/mL avec une médiane à 1,47 μ UI/mL. Dans cette étude, elle n'est pas très éloignée des études déjà citées et de l'intervalle de convention. Les études qui présentent une valeur éloignée de la nôtre, sont les études qui ont recruté des sujets plus âgés (allant à 74 ans dans la VÖLZKE¹⁸²) sujet plus jeune (12 ans dans NHANES III) et ont utilisé l'échographie pour la recherche de pathologie thyroïdienne.

Etant donné qu'il n'a pas de discordance avec les études et les consensus mondiaux. L'intervalle retrouvé dans cette étude [0,29 - 3,84] μ UI/mL peut être considéré comme valide et utilisable pour les caractériser la population algérienne pour la TSH.

La relation $\log \text{TSH/FT4}$ est complexe¹⁸³, elle semble indiquer que la TSH est la première anomalie à apparaître avec le développement d'une dysthyroïdie. L'étude retrouve une corrélation moyenne et inverse entre ces deux paramètres ($R = - 0,412$ avec $p < 0,0001$) probablement parce que l'échantillonnage a exclu les sujets pathologiques (hypothyroïdie - hyperthyroïdie) d'une part mais aussi cette relation $\log \text{TSH/FT4}$ n'est pas modifiée par la méthode de dosage¹⁸⁴, ou par l'âge et le sexe¹⁸⁵.

La même corrélation négative, mais plus faible a été obtenue pour le couple $\log \text{TSH/FT3}$ ($R = - 0,239$ avec une $p < 0,0003$), cette corrélation est rarement étudiée ou retrouvée^{186,187}. Alors que la corrélation FT4/FT3 est faiblement positive ($R = 0,235$ avec $p < 0,0003$), et correspond à la logique des sécrétions des HT. Ces valeurs de corrélation entre ces différents paramètres viennent appuyer l'exactitude des résultats obtenus et de l'étude.

Pour améliorer l'exactitude du diagnostic de l'hypothyroïdie et de l'hyperthyroïdie¹⁸⁸. Les dosages des hormones thyroïdiennes libres FT4 et FT3 sont considérés comme préférables aux dosages d'hormones thyroïdiennes totales. Ces dosages viennent en seconde intention après celui de la TSH. On a retrouvé une corrélation moyenne entre la FT4/FT3 à $R = 0,23$ ($p < 0,0003$) pour des valeurs normales des HT.

L'IFCC a établi une procédure de mesure de référence absolue ou reference model parameter (RMP) pour les HT libres basée sur la spectrométrie de masse à dilution dialyse équilibre avec des calibrateurs primaires^{189,190}. On reproche à ces méthodes absolues une reproductibilité imparfaite et surtout une lourdeur technique difficilement compatible avec des analyses de routine.

Une évaluation des immunoessais FT4 actuels a révélé une variabilité inter-méthode majeure¹⁹¹ et des biais significatifs par rapport au recalibrage au RMP qui dépasse de loin la variabilité biologique de la FT4^{192,193}, d'autres auteurs ont trouvé que les dosages de la thyroxine libre tendent qualitativement vers une uniformisation des résultats, quelle que soit la méthodologie¹⁹⁴.

Il a été démontré que les méthodes de recalibrage par rapport au RMP ont réduit considérablement les biais qui empêchent actuellement la mise en œuvre d'intervalles de référence universels qui s'appliqueront à l'ensemble des méthodes. La méthode utilisée étant calibrée par rapport à ce RMP nous permet de penser que nos résultats fiables sur le plan diagnostique.

Les plages de référence actuelles pour les dosages immunologiques de la FT4 et de la FT3 sont dépendantes de la méthode en raison des biais d'étalonnage¹⁹⁵. Ce problème d'étalonnage a un impact négatif sur l'utilité clinique des tests FT4/FT3 parce qu'il empêche d'établir des plages de référence universelles qui s'appliqueront à l'ensemble des méthodes.

La méthode de radioimmunos dosage utilisant un dérivé biotinylé fixé sur une phase solide est celle utilisée dans cette étude, et est en principe à l'abri des défauts majeurs retrouvés dans les autres méthodes de dosages¹⁹⁶.

Les résultats trouvés sont comparés à d'autres études (tableau XXXV et XXXVI).

Tableau XXXIII. Intervalles de référence pour la FT4.

FT4	Limite inférieure	Limite supérieure	Médiane	Effectif
Étude	9,58	22,18	15,1	256
Beckman	11,5	23	ND	198
Consensus européen ²	10	25 (28)	ND	ND
Recommandation USA	9	22	ND	ND

Tableau XXXIV. Intervalles de référence pour la FT3

FT3	Limite inférieure	Limite supérieure	Médiane	Effectif
Étude	2,37	7,1	1,4	229
Beckman	2,5	5,8	ND	198
Consensus européen ²	3	8	ND	ND
Recommandation USA	3,5	6,5	ND	ND

En ce qui concerne la FT4, l'étude retrouve un léger décalage vers des valeurs basses avec des médianes proches et pas de différence significative entre les mesures faites par le fabricant de la trousse, les autres études^{197,198}. Car les méthodes de dosages sont harmonisées et calibré par rapport au RMP (reference model parameter)¹⁹⁹.

Les valeurs de références pédiatriques, de patients hospitalisés ou de femmes en cours de grossesse n'ont pas été abordées dans cette étude.

Les intervalles des valeurs de référence (2,5 – 97,5 percentiles) pour la FT4 peuvent aller de 9 à 25 pmol/L. La limite supérieure du dosage par dialyse/RIA est plus élevée (28 pmol/L). En comparant ces valeurs à celles trouvées dans cette étude, on trouve que nos résultats concordent parfaitement avec les limites estimées par immunodosage. L'intervalle [9,58 – 22,18] pmol/L correspond à une plage tout à fait normale, incluse dans des intervalles consensuels.

En ce qui concerne la FT3 avec son intervalle de référence de [2,37 à 7,1] pmol/L on n'observe pas de différence significative avec les intervalles consensuels même si les valeurs des études américaines tendent à une striction de l'intervalle [2,5–5,8] pmol/L, faite pour les mêmes méthodes d'échantillonnage selon l'âge, l'ethnie ainsi que la technique et la méthode de dosage utilisées.

Les résultats du dosage de la FT3 sont fiables et permettent de détecter les faux positifs, quand il y a discordance entre la TSH et la FT4²⁰⁰.

Les TPOAb et/ou les TgAb sont fréquemment présents dans le sérum des patients atteints d'AITD et ils sont souvent liés. Une corrélation positive entre les TPOAb et les TgAb avec $R = 0,29$ ($p < 0,001$) est retrouvé, ce qui correspond à une bonne corrélation en dehors des valeurs pathologiques. L'étude de la corrélation de la TSH et les anticorps révèle une corrélation faible avec les TPOAb et une absence de corrélation avec TgAb. Ce qui place le dosage des TPOAb devant le dosage des TgAb pour le diagnostic étiologique des dysthyroïdies.

Le dosage sérique le plus sensible et le plus spécifique des TPOAb et des TgAb sont réalisés par radioimmunoanalyse avec un seuil entre 20 UI/mL et 60 UI/mL pour les deux anticorps, correspondant à la limite inférieure normale pour un dosage dit sensible avec Ac indétectables.

Les TPOAb sont présents chez 90 à 100 % des patients présentant une thyroïdite avec hypothyroïdie clinique et 50 à 60 % des patients présentant une thyroïdite auto-immune infraclinique²⁰¹.

Notre étude a trouvé qu'un taux de TPOAb négatif est inférieur à la valeur seuil de 18,86 UI/mL pour les TPOAb ce qui en total accord avec la littérature¹⁴³. Les valeurs de la trousse Beckman sont nettement plus élevées et arrivent à 70 UI/mL. Ceci dénote que cette étude a permis de mieux sélectionner les personnes « saines » indemnes de pathologies thyroïdiennes.

Pour les TgAb le taux de 41,52 UI/mL paraît bien plus élevé que les limites proposées par le fabricant et les autres études (< 30 UI/mL) ceci est dû à la variabilité de la méthode utilisée dans les autres études (ELISA) et à la faible sensibilité des tests RIA que nous avons utilisé²⁰².

6. CONCLUSION :

L'exploration biologique de la thyroïde représente le premier maillon de l'appréciation objective de la fonction thyroïdienne. La diversité des démarches de diagnostic, surveillance et de traitement des pathologies thyroïdiennes rend compte du grand nombre des demandes de bilans biologiques thyroïdiens. Des bilans dont la qualité des dosages est dûment exigée par les praticiens²⁰³.

Plusieurs études ont pu montrer que le dosage de la TSH est l'examen de première intention, il est fortement demandé dans grand nombre de situations.

Les hormones libres LT3 et LT4 sont parallèlement ou secondairement demandées pour le diagnostic et la surveillance des traitements au cours des pathologies thyroïdiennes²⁰⁴. Le dosage des anticorps anti TPO et anti TG est un outil précieux pour le diagnostic du caractère auto-immun des dysthyroïdies^{205,206}.

Devant ce large éventail biologique, les immunodosages utilisant des anticorps monoclonaux se sont imposées comme méthodes de références unanimement admises pour l'ensemble de ces paramètres¹. Le radiodosage étant exclusivement et largement utilisée dans les laboratoires de médecine nucléaire surtout en Algérie.

Malgré les performances en sensibilité et en spécificité de ces méthodes de dosages, les bilans de la fonction thyroïdienne sont influencés par plusieurs facteurs : l'ethnie, statut iodé, présence d'auto-anticorps^{207,208}, activité physique et grossesse, médication²⁰⁹ et autre. Ceci rend l'interprétation des résultats difficiles et peut mener à une prise de décision médicale inadéquate.

Pour corriger ce problème, les sociétés savantes qui sont à la pointe de la recherche comme la AACE, NACB, ATA, IFCC, ont émis dans leurs consensus, des recommandations pour essayer de standardiser l'exploration biologique de la thyroïde.

La principale recommandation de ces sociétés est d'établir de façon rigoureuse des intervalles et des valeurs de référence pour une population donnée et de ne pas prendre en compte les valeurs proposées par les fabricants, ces dernières étant établies à titre indicatif selon leur population locale. Ce qui a été récemment réalisé dans plusieurs pays mais pas en Algérie.

La détermination des intervalles et des valeurs de référence a nécessité au préalable la définition et la sélection d'une population de référence rassemblant des sujets en apparence « bonne santé », sans signe de pathologie sous-jacente. C'est la relativité du concept de bonne santé qui complique le travail de sélection.

C'est pourquoi toutes les études entreprises ont montré des valeurs limites et des intervalles de références différentes. Pour la TSH, si la limite inférieure de 0,4 mUI/L est globalement admise par tous, la limite supérieure entre 2,5 à 4,5 ou 5 mUI/L reste controversée²¹⁰, surtout lorsqu'il s'agit de diagnostiquer les hypothyroïdies frustes²¹¹.

L'étude menée a permis de présenter les valeurs et des intervalles dans l'exploration biologique de la thyroïde, ce qui et qui sont groupés dans le tableau suivant :

Tableau XXXV. Résultats finaux de l'étude

PARAMÈTRE	LIMITE INFÉRIEURE	LIMITE SUPÉRIEURE	UNITÉ
TSH	0,29	3,86	μUI/mL
FT4	9,58	22,18	pmol/L
FT3	2,37	7,1	pmol/L
TPOAb	NP	18,86	UI/L
TgAb	NP	41,52	UI/L

Ces chiffres peuvent être utilisés dans tous les laboratoires en Algérie utilisant ce type de radiodosage et servir de référence au praticien pour faire un bilan thyroïdien pour leurs patients (sujets jeunes et adultes ambulatoires) afin de mieux évaluer l'état de leurs patients. Et pour une meilleure prise en charge.

En prolongement de cette études, d'autres travaux doivent être réalisés que sont la détermination des intervalles de référence de la TSH, FT3 et FT4 chez les sujets en croissance et les sujets âgées, chez les patients ayant une pathologie grave affectant le fonctionnement thyroïdien et chez les femmes enceintes avec une partition pour chaque trimestre²¹². Encore plus pertinents, sont la détermination des seuils décisionnels pour une intervention clinique dans l'hyperthyroïdie ou l'hypothyroïdie.

D'autre part, on peut envisager l'étude des variations de ces intervalles et des valeurs de référence en fonction de différentes méthodes et de techniques de mesures permettant ainsi à différents laboratoires de vérifier et éventuellement de transférer ces intervalles et valeurs de manière correcte.

TERMINOLOGIE

Les définitions qui suivent ont été approuvées par la Fédération internationale de chimie et de médecine de laboratoire (IFCC-LM) ainsi que par l'Organisation mondiale de la santé (OMS), puis par le CLSI. Elles ont été intégralement reprises dans le premier document publié conjointement par l'IFCC et le CLSI ²¹³:

- Valeur observée : valeur d'un analyte obtenue par une observation ou une mesure d'un sujet à tester, qui doit être comparée à des valeurs de référence, une distribution de référence, des limites de référence ou un intervalle de référence.
- Distribution de référence : la distribution des valeurs de référence.
- Individu de référence : une personne sélectionnée sur la base de critères bien définis.
- Population de référence : un groupe constitué de tous les individus de référence.
- Intervalle de référence : l'intervalle entre deux limites de référence (celles-ci incluses)
- Les limites de référence sont associées à une population de référence, généralement constitué de personnes en bonne santé. Elles constituent un des éléments contributifs à la prise de décision médicale.
- Les limites de décision médicales sont utilisées comme un seuil en dessous ou au-dessus duquel une action médicale est recommandée.

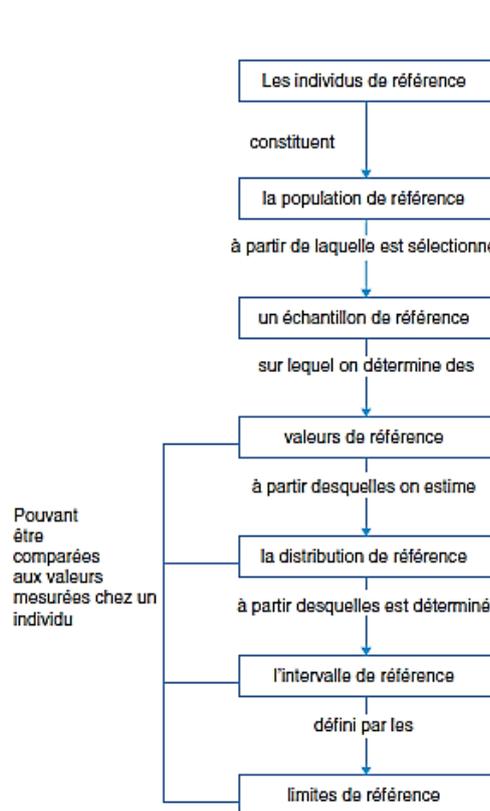


Figure 26. Organigramme sur le concept de valeurs de référence.

BIBLIOGRAPHIE

-
- ¹ **Wang C, Crapo LM.** The epidemiology of thyroid disease and implications for screening. *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.* 26 (1) :189-218.1997.
- ² **Szymanowicz, J. Watine , A. Perrin , E. Blanc-Bernard-Nourdine , M. Perrin.** Place de la biologie dans les démarches du diagnostic et du suivi thérapeutique des dysthyroïdies (cancérologie exclue). *Immunoanalyse et biologie spécialisée.* 25 : 82-103. 2010.
- ³ **G Picaper, y Barbier, G Baudin, P Blouin.** La radioimmunologie : un outil moderne du diagnostic, *Immunoanalyse et biologie spécialisée.* 12 :49-53.1997.
- ⁴ **Ferraro S, Panteghini M.** The role of laboratory in ensuring appropriate tests requests. *Clinical Biochemistry.* 50 (10-11) : 555-561.2017.
- ⁵ **Vanderpump MPJ, Tunbridge WMG, French JM et al.** The incidence of thyroid disorders in the community : a twenty-year follow up of the Whickham Survey. *Clin Endocrinol;* 43 : 55-68.1995.
- ⁶ **D'Herbomez M, Jarrige V, DarteC.** Intervalles de référence pour la thyrotropine sérique (TSH) et la thyroxine libre (FT4) chez l'adulte à l'aide du système d'immunoessais d'Acces. *Clin Chem Lab Med;* 43: 102-105.2005.
- ⁷ **F. Arzideh, W. Wosniok, R. Haeckel.** Indirect reference intervals of plasma and serum thyrotropin (TSH) concentrations from intra-laboratory data bases from several German and Italian medical centers. *Clin Chem Lab Med.* 2011.
- ⁸ **T. Inal, M. Serteser, A. Coskun, A. Özpınar, I. Ünsal.** Indirect Reference Intervals Estimated from Hospitalized Population for Thyrotropin and Free Thyroxine. *Croat Med J.* 51 : 124-30. 2010.
- ⁹ **Bjoro T, Holmen J, Kruger O et al.** Prevalence of thyroid disease, thyroid dysfunction and thyroid peroxidase antibodies in a large, unselected population. The Health Study of Nord-Trondelag (HUNT). *Eur J Endocrinol.* 143 :639–647. 2000.
- ¹⁰ **Friis-Hansen L, Hilsted L.** Reference intervals for thyrotropin and thyroid hormones for healthy adults based on the NOBIDA material and determined using a Modular E170. *Clin Chem Lab Med.* 46 :13:05–12. 2008.
- ¹¹ **G. Dhatt, G. Griffin et al.** Thyroid hormone reference intervals in ambulatory Arab population on the abbot Architect i2000 immunoassay analyze. *Clin chem acta.* 364 : 226-229.2006.
- ¹² **K. Takeda, M. Mishiba, A. Nakajima, M. Kohaa et al.** Evaluated Reference Intervals for Serum Free Thyroxine and Thyrotropin Using the Conventional Outliner Rejection Test without Regard to Presence of Thyroid Antibodies and Prevalence of Thyroid Dysfunction in Japanese Subjects. *Endocrine Journal.* 56: 9: 1059-1066. 2009.
- ¹³ **Hollowell JG, Staehling NW, FlandreWD, Hannon WH, Gunter EW, CA Spencer, Braverman LE.** Sérum TSH, T (4) et anticorps thyroïdiens dans la population des États-Unis (1988 à 1994): Enquête nationale sur la santé et la nutrition (NHANES III). *J Clin Endocrinol Metab;* 87: 489-499.2002.
- ¹⁴ **I. Benseñor.** Screening for thyroid disorders in asymptomatic adults from Brazilian populations. *Sao Paulo Med J/ Rev Paul Med.* 120:5:146-51. 2002.

-
- ¹⁵ **Demers LM, Spencer CA.** Consensus américain. *Thyroid* 13. 1 :2-126.2003
- ¹⁶ **L. Thienpont et al.** Report of the IFCC Working Group for Standardization of Thyroid Function Tests; Part 1: Thyroid-Stimulating Hormone. *Clinical Chemistry*. 56: 6: 902–911.2010.
- ¹⁷ **L. Thienpont et al.** Report of the IFCC Working Group for Standardization of Thyroid Function Tests; Part 2: Free Thyroxine and Free Triiodothyronine. *Clinical Chemistry* 56. 6:912–920.2010.
- ¹⁸ **Richard L. Drake, A Wayne Vogl, Adam W.M. Mitchell,** Gray's anatomie pour les étudiants, deuxième édition, 965-967, 2010.
- ¹⁹ **Young, Lowe, Stevens, Heath.** Atlas d'histologie fonctionnelle de Wheater, 2013.
- ²⁰ **Welsch,** Précis d'histologie, première édition, Lavoisier, 381-386, 2004.
- ²¹ **Brabant G, Bergmann P, Kirsch CM, Köhrie J, Hesch RD, Von zur mühlen A.** Early adaptation of thyrotropin and thyroglobulin secretion to experimentally decreased iodine supply in man. *Metabolism*; 41:1093-1096. 1992.
- ²² **Soldin OP, Soldin SJ, Pezzullo JC.** Urinary iodine percentile ranges in the United States. *Clin Chim Acta*; 328(1-2):185-190. 2003.
- ²³ **ROUSSET B, DUPUY C et Al.** Thyroid hormon synthesis and regulation. *Endotext*. Chapter 2. 2000.
- ²⁴ **Levy O, Ginter CS, De la Vieja A, Levy D, Carrasco N.** Identification of a structural requirement for thyroid Na⁺/I⁻ symporter (NIS) function from analysis of a mutation that causes human congenital hypothyroidism. *429(1) :36-40.1998.*
- ²⁵ **Kogai T, Endo T, Saito T, Miyazaki A, Kawaguchi A, OnayaT.** Regulation by thyroid-stimulating hormone of sodium/iodide symporter gene expression and protein levels in FRTL-5 cells. *Endocrinology*. 138(6):2227-2232.1997.
- ²⁶ **Rodriguez AM, Perron B, Lacroix L et al.** Identification and characterization of a putative human iodide transporter located at the apical membrane of thyrocytes. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 87(7):3500-3503. 2002.
- ²⁷ **Dunn JT, Dunn AD.** Thyroglobulin: chemistry, biosynthesis, and proteolysis. In: Braverman LE, Utiger R, editors. *The Thyroid*. Philadelphia: Lippicott Williams & Wilkins. 91-104. 2000.
- ²⁸ **Oppenheimer JH.** Role of plasma proteins in the binding, distribution, and metabolism of the thyroid hormones. *N Engl J Med*. 278:1153-1162. 1968.
- ²⁹ **Refetoff S.** Inherited thyroxine-binding globulin (TBG) abnormalities in man. *Endocr Rev* . 10:275-293. 1989.

- ³⁰ **Kohrle J, Jakok F, Contempré B, Dumont J.E.** Selenium, the thyroid and the endocrine system. *Endocrine reviews*. 26 : 7.944-948. 2005
- ³¹ **Larsen PR, Zavacki AM.** Role of the Iodothyronine Deiodinases in the Physiology and Pathophysiology of Thyroid Hormone Action. *Eur Thyroid J*. 2012.
- ³² **Ganong, Barrett, Bareman, Boitano, Brooks.** *Physiologie médicale*, troisième édition, 302 – 307, 2012.
- ³³ **Herveguenard .** *Physiologie humaine*, 1er Edition, Pradel, 2009.
- ³⁴ **Menezes-Ferreira, M.M., Petrick, P.A et Weintraub, B.D.** Regulation of thyrotropin (TSH) bioactivity by TSH-releasing hormone and thyroid hormone. *Endocrinology*, 118, 2125-2130. 1986.
- ³⁵ **Gershengorn MC, Osman R.** Molecular and cellular biology of thyroid releasing hormone. *Physiology review*. 15:391-199.1990.
- ³⁶ **Roelfesma F, Boelen A, Kalsbeek A, Fliers E.** Regulatory aspects of human hypothalamus pituitary thyroid axis. *Best practice & clinical endocrinology & metabolism*.31. 5 : 487-503. 2017.
- ³⁷ **Brabant, G., Prank, K., Ranft, U., Schuermeyer, T., Wagner, T.O., Hauser, et Al.** Physiological regulation of circadian and pulsatile thyrotropin secretion in normal man and woman. *J Clin Endocrinol Metab*, 70, 403-409. 1990.
- ³⁸ **DOGGUI R, INGRAND J.** Free thyroxine immunoassay : analytical review. *Anales de biologie Clinique*. 73 : 2. 2015.
- ³⁹ **Cavalieri RR.** Iodine metabolism and thyroid physiology: current concept. *Thyroid*.7:177-182.1997.
- ⁴⁰ **Wolff J.** Excess iodide inhibits the thyroid by multiple mechanisms. *Adv Exp Med Biol*; 261:211-244. 1989.
- ⁴¹ **Kraiem EM, Sadeh O, Blithe DL et Al.** Human chorionic gonadotrophin stimulate thyroid hormone secretion, iodine intake, organification, and adenosine 3',5'-monophosphate formation in cultured human thyrocytes. *J Clin. Endocrinol. Metab*. 79: 595-599. 1994.
- ⁴² **Brown RS.** Immunoglobulins affecting thyroid growth: a continuing controversy. *J Clin Endocrinol Metab*. 80:1072-1078.1994.
- ⁴³ **Widmaier, Hershel, Strang.** *Physiologie humaine*, 6ème Edition, Maloine, 2013.
- ⁴⁴ **Moncayo R, Moncayo H.** Applying a systems approach to thyroid physiology: Looking at the whole with a mitochondrial perspective instead of judging single TSH values or why we should know more about mitochondria to understand metabolism
BBA Clinical. 7 : 127- 140. 2017.
- ⁴⁵ **Ram B. Jain.** Associations between the levels of thyroid hormones and lipid/lipoprotein levels: Data from National Health and Nutrition Examination Survey 2007–2012. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 53 : 133-144.2017.
- ⁴⁶ **Ingrand.** *Physiologie et biochimie de glande thyroïde*, cahier de formation en biologie médicale, N°14, Bioforma, 1999.

-
- ⁴⁷ **Gaillard.** La thyrotropine (TSH), Immunoanalyse et biologie spécialisée. Vol. 1, pp. 11–13, 2002.
- ⁴⁸ **Grossmann, M., Weintraub, B.D et Szkudlinski, M.W.** Novel insights into the molecular mechanisms of human thyrotropin action: structural, physiological, and therapeutic implications for the glycoprotein hormone family. *Endocr Rev.* 18, 476-501. 1997.
- ⁴⁹ **Piketty ML, Talbot JN, Askienazy S, Milhaud G.** Clinical significance of a low concentration of Thyrotropin five immunometric “kit” assays compared. *Clin Chem.* 33:1237-1241. 1987.
- ⁵⁰ **Benhadi N, Fliers E, Visser TJ, Reitsma JB, Wiersinga WM.** Pilot study on the assessment of the setpoint of the hypothalamus-pituitary-thyroid axis in healthy volunteers. *Eur J Endocrinol* 162:323-329. 2010.
- ⁵¹ **Singh RJ, Kaur P.** Thyroid hormone testing in the 21st century. *Clinical Biochemistry.* 49 (12) :843-845. 2016.
- ⁵² **Atmaca H, Tanriverdi F, Gokce C, Unluhizarci K, Kelestimur F.** Do we still need the TRH stimulation test? *Thyroid* 17:529-533. 2007.
- ⁵³ **Kasagi K et Al.** Comparaison of serum thyrotropin concentrations determined by a third generation assay in patients with various types of overt and subclinical thyrotoxicosis. 50:185-189.1990.
- ⁵⁴ **Fraser CG, Browning MCK.** A plea for abandonment of the term “Highly Sensitive” for Thyrotropin assays. *Clin Chem* 32:569-570. 1986.
- ⁵⁵ **Caldwell G, Gow SM, Sweeting VM, Beckett GJ, Seth J, Toft AD.** Value and limitations of a highly sensitive immunoradioimetric assay for Thyrotropin in the study of thyrotoxic function. *Clin Chem* 33:303-305. 1987.
- ⁵⁶ **Surmont DWA, Alexandre JA.** Adaptations to keep a Thyrotropin immunoradiometric assay “supersensitive” with automated pipetting. *Clin Chem* 34:370-371. 1988.
- ⁵⁷ **Owen WE, Gantzer ML, Lyons JM, Rockwood AL, Roberts WL.** Functional sensitivity of seven automated thyroid stimulating hormone immunoassays. *Clin Chim Acta* 412:2336-2339. 2011.
- ⁵⁸ **Hollowell JG, Staehling NW, Hannon WH, Flanders WD, Gunter EW et al.** Serum thyrotropin, thyroxine, and thyroid antibodies in the United States population (1988 to 1994): NHANES III. *J ClinEndocrinolMetab* 87:489-499. 2002.
- ⁵⁹ **Boucai L SM.** Reference limits of serum TSH and free T4 are significantly influenced by race and age in an urban outpatient medical practice. *Clin Endocrinol* 70:788-793. 2009.
- ⁶⁰ **Sichieri R, Baima J, Marante T, de Vasconcellos MT, Moura AS, Vaisman M.** Low prevalence of hypothyroidism among black and Mulatto people in a population-based study of Brazilian women. *Clin Endocrinol* 66:803-807. 2007.
- ⁶¹ **Buchinger W, Lorenz-Wawschinek O, Semlitsch G, Langsteger W, Binter G, et al.** Thyrotropin and thyroglobulin as an index of optimal iodine intake: correlation with iodine excretion of 39,913 euthyroid patients. *Thyroid* 7:593-597. 1997.
- ⁶² **Nyrnes A, Jorde R, Sundsfjord J.** Serum TSH is positively associated with BM. *Int J Obes* 30:100-105. 2006.

- ⁶³ **Soldin OP, Goughenour BE, Gilbert SZ, LandyHJ, SoldinSJ.** Thyroid Hormone Levels Associated with Active and Passive Cigarette Smoking. *Thyroid* 20. 2010.
- ⁶⁴ **Stricker R, Echenard M, Eberhart R, Chevailler MC, Perez V et al.** Evaluation of maternal thyroid function during pregnancy: the importance of using gestational age-specific reference intervals. *Eur J Endocrinol* 157:509-514. 2007.
- ⁶⁵ **Baloch Z, Carayon P, Conte-Devolx B, Demers LM, Spencer CA et al.** Laboratory Medicine Practice Guidelines: Laboratory Support for the Diagnosis and Monitoring of Thyroid Disease. *Thyroid* 13:1-126. 2003.
- ⁶⁶ **Donadio Andrei S et Al.** Quelle pertinence accorder au taux circulant de TSH ? Immunoanalyse et biologie spécialisée, 28 :223-239. 2013.
- ⁶⁷ **Donadio S, Pascual A, Dugas M, Ronin C.** Standardisation des immunodosages de la TSH: production de nouveaux calibrateurs et harmonization des tests. *Immuno-analyse et biologie spécialisée*, 21 : 79-90. 2006.
- ⁶⁸ **Singer PA, Cooper DS, Levy EG, Ladenson PW, Braverman LE et al.** Treatment guidelines for patients with hyperthyroidism and hypothyroidism. Standards of Care Committee, American Thyroid Association. *JAMA* 273:808-812. 1995.
- ⁶⁹ **Garber JR, Cobin RH, Gharib H, HennesseyJV, Klein et al.** Clinical Practice Guidelines for Hypothyroidism in Adults: Co-sponsored by American Association of Clinical Endocrinologists and the American Thyroid Association. *Endocr Pract* 18:1-207. 2012.
- ⁷⁰ **Bach-Huynh TG, Nayak B, Loh J, Soldin S, Jonklaas J.** Timing of levothyroxine administration affects serum thyrotropin concentration. *J Clin Endocrinol Metab* 94:3905-3912. 2009.
- ⁷¹ **Pujol P, DauresJP, Nsakala N, Baldet L, et al.** Degree of thyrotropin suppression as a prognostic determinant in differentiated thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 81:4318-4323.1996.
- ⁷² **Persani L, Ferretti E, Borgato S, Faglia G, Beck-PeccozP.** Circulating thyrotropin bioactivity in sporadic central hypothyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 85:3631-3635. 2000.
- ⁷³ **Lania A, Persani L, Beck-PeccozP.** Central hypothyroidism. *Pituitary* 11:181-186. 2008.
- ⁷⁴ **Beck-Peccoz P, Lania A, Beckers A, Chatterjee K, Wemeau J-L.** European Thyroid Association Guidelines for the Diagnosis and treatment of TSH-secreting pituitary tumors. 2013.
- ⁷⁵ **Wikipédia :** Thyroxine.
- ⁷⁶ **Vagenakis AG, BurgerA, Portnary GI, Rudolph M, O'Brian JR, Aziz F et al.** Diversion peripheral thyroxine metabolism from activating to inactivating pathways during complete fasting. *J Clin Endocrinol Metab*; 41: 191- 4.1975.
- ⁷⁷ **Wartovsky L, BurmankD.** Alterations in thyroid function in patient with systemic illness: The "euthyroid sick syndrome". *Endocrine Rev.* 3: 164-217.1982.
- ⁷⁸ **Pontecorvi A, Robbins J.** The plasma membrane and thyroid hormone entry into cells. *Trends Endocrinol Metab*; 1; 90-4.1989.

-
- ⁷⁹ **Visser TJ**, Thyroid hormone metabolism in humans. In: Degroot LHG. Ed. The Thyroid and its diseases; 2000.
- ⁸⁰ **Nelson JC, Tomei RT**. Dependence of the thyroxin/thyroxin binding globulin (TBG) ratio and the free thyroxin index on TBG concentrations. *Clin Chem*, 35:541-544. 1989.
- ⁸¹ **Robbins J**. Thyroid hormone transport proteins and the physiology of hormone binding. 1996.
- ⁸² **Nelson JC, Wilcox RB**. Analytical performance of free and total thyroxine assays. *Clin Chem*, 42: 146-154. 1996.
- ⁸³ **Midgley JE**. Direct and indirect free thyroxine assay methods: theory and practice. *Clin Chem* 47:1353-1363. 2001.
- ⁸⁴ **Holm SS, Andreasen L, Hansen SH, Faber J, Staun-Olsen P**. Influence of adsorption and deproteination on potential free thyroxine reference methods. *Clin Chem* 48:108-114. 2002.
- ⁸⁵ **Christofides ND, Midgley JE**. Inaccuracies in free thyroid hormone measurement by ultrafiltration and tandem mass spectrometry. *Clin Chem* 55:2228-2229. 2009.
- ⁸⁶ **Sheehan CP, Christofides ND**. One-step, labeled-antibody assay for measuring free thyroxin. !!. Performance in a multicenter trial. *Clin Chem* 38:19-25. 1992.
- ⁸⁷ **Thienpont LM, Beastall G, Christofides ND, Faix JD, Ieri T, et al**. Proposal of a candidate international conventional reference measurement procedure free thyroxine in serum. *Clin Chem Lab Med* 45:934-936. 2007.
- ⁸⁸ **Baskin HJ, Cobin RH, Duick DS, Gharib H, Guttler RB et al**. American Association of Clinical Endocrinologists medical guidelines for clinical practice for the evaluation and treatment of hyperthyroidism and hypothyroidism. *Endocr Pract* 8:457-469. 2002.
- ⁸⁹ **Jin J et al**. Levothyroxine replacement dosage determination after thyroidectomy. *Amer Journal of Surgery*, 205: 360-364.2013.
- ⁹⁰ **Kundra P, BurmanKD**. The effect of medications on thyroid function tests. *Med Clin North Amer* 96:283-295. 2012.
- ⁹¹ **Roelfsema F, Kok S, Kok P, Pereira AM, Biermasz NR et al**. Pituitary-hormone secretion by thyrotropinomas. *Pituitary*. 12 :200-210. 2009.
- ⁹² **Benhadi N, Fliers E, VisserTJ, ReitsmaJB, Wiersinga WM**. Pilot study on the assessment of the setpoint of the hypothalamus-pituitary-thyroid axis in healthy volunteers. *Eur J Endocrinol*. 162 :323-329. 2010.
- ⁹³ **Stockigt JR**. Free thyroid hormone measurement. A critical appraisal. *Endocrinol Metab Clin North Am*. 30:265-289. 2001.
- ⁹⁴ **Verhoye E, Van den Bruel A, Delanghe JR, Debruyne E et al**. Spuriously high thyrotropin values due to anti-thyrotropin antibodies in adult patients. *Clin Chem Lab Med* 47:604-606. 2009.
- ⁹⁵ **Ross HA MP, Thomas CM, Mudde AH, Kouwenberg M, WolffenbuttelBH**. Interference from heterophilic antibodies in seven current TSH assays. *Ann Clin Biochem* 45:616. 2008.

-
- ⁹⁶ **Sapin R, Schlienger JL, Gasser F, Noel E, Lioure B et al.** Intermethod discordant free thyroxine measurements in bone marrow-transplanted patients. *Clin Chem* 46:418-422. 2000.
- ⁹⁷ **Stockigt JR.** Guidelines for diagnosis and monitoring of thyroid disease: non thyroidal illness. *Clin Chem* 42:188-192. 1996.
- ⁹⁸ **Becker DV, Bigos ST, Gaitan E, Morris JC, Spencer CA et al.** Optimal use of blood tests for assessment of thyroid function. *JAMA* 269:2736. 1993.
- ⁹⁹ **Spencer CA, Eigen A, Shen D, Duda M, Qualls S et al.** Specificity of sensitive assays of thyrotropin (TSH) used to screen for thyroid disease in hospitalized patients. *Clin Chem* 33:1391-1396. 1987.
- ¹⁰⁰ **Van der Sluijs Veer G, Vermes I, Bonte HA, Hoorn RK.** Temperature effects on free-thyroxine measurements: analytical and clinical consequences. *Clin Chem* 38:1327-1331. 1992.
- ¹⁰¹ **Biomnis biologie médicale spécialisée** (Prospectus).
- ¹⁰² **Rodien P, Madec AM, Ruf G, Rajas F, Bornet H, Carayon P et al.** Antibody-dependant cell-mediated cytotoxicity in auto-immune thyroid diseases : relationship to antiperoxydase antibodies. *J Clin Endocrinol Metab*; 81 : 2595-600.1996.
- ¹⁰³ **Dayan CM, Daniels GH.** Chronic auto-immune thyroiditis. *N Engl J Med* ; 335 : 99-107.1996.
- ¹⁰⁴ **Vanderpump MPJ, Tunbridge WMG, French JM et al.** The incidence of thyroid disorders in the community : a twenty-year follow up of the Whickham Survey. *Clin Endocrinol*; 43 : 55-68.1995.
- ¹⁰⁵ **Fulla Y.** Autoanticorps des maladies auto-immunes de la thyroïde (anti-Tg, anti-TPO, antimicrosome, anti récepteur de la TSH). *EMC – Biologie médicale* ; 1 (1) : 1-3. 2006 .
- ¹⁰⁶ **La'ulu SL, Slev PR, Roberts WL.** Performance characteristics of 5 automated thyroglobulin autoantibody and thyroid peroxidase autoantibody assays. *Clin Chim Acta* 376:88-95. 2007.
- ¹⁰⁷ **Ericsson UB, Christensen SB, Thorell JI.** A high prevalence of thyroglobulin autoantibodies in adults with and without thyroid disease as measured with a sensitive solid-phase immunosorbent radioassay. *Clin Immunol Immunopathol* 37:154-162. 1985.
- ¹⁰⁸ **Ehlers M, Thiel A, Bernecker C, Porwol D, Papewalis C et al.** Evidence of a combined cytotoxic thyroglobulin and thyroperoxidase epitope-specific cellular immunity in Hashimoto's thyroiditis. *J Clin Endocrinol Metab* 97:1347-1354. 2012.
- ¹⁰⁹ **Meisinger C, Ittermann T, Wallaschofski H, Heier M, Below H et al.** Geographic variations in the frequency of thyroid disorders and thyroid peroxidase antibodies in persons without former thyroid disease within Germany. *Eur J Endocrinol* 167:363-371. 2012.
- ¹¹⁰ **Feldt-Rasmussen U, Hoin-Madsen M, Beck K, al.** Anti-thyroid peroxidase antibodies in thyroid disorders and non thyroid autoimmune diseases. *Autoimmunity* 9:245-251. 1991.
- ¹¹¹ **Vestgaard M, Nielsen LR, Rasmussen AK, Damm P, Mathiesen ER.** Thyroid peroxidase antibodies in pregnant women with type 1 diabetes: impact on thyroid function, metabolic control and pregnancy outcome. *Acta Obstet Gynecol Scand* 87:1336-1342. 2008.
- ¹¹² **Nakamura H, Usa T, Motomura M, Ichikawa T, Nakao K, et al.** Prevalence of interrelated autoantibodies in thyroid diseases and autoimmune disorders. *J Endocrinol Invest* 31:861-865. 2008.

-
- ¹¹³ **Hutfless S, Matos P, Talor MV, Caturegli P, Rose NR.** Significance of prediagnostic thyroid antibodies in women with autoimmune thyroid disease. *J Clin Endocrinol Metab* 96:E1466-1471. 2011.
- ¹¹⁴ **Mecacci F, Parretti E, Cioni R, Lucchetti R, Magrini A et al.** Thyroid autoimmunity and its association with non-organ-specific antibodies and subclinical alterations of thyroid function in women with a history of pregnancy loss or preeclampsia. *J Reprod Immunol* 46:39-50. 2000.
- ¹¹⁵ **He X, Wang P, Wang Z, He X, Xu D, Wang B.** Thyroid antibodies and risk of preterm delivery: a meta-analysis of prospective cohort studies. *Eur J Endocrinol* 167:455-464. 2012.
- ¹¹⁶ **Mayer A, Orgiazzi J.** Auto-immunité et thyroïde. *Encycl Med Chirurg Endocrinologie-Nutrition* ; 1-12.2000.
- ¹¹⁷ **Shimojo N, Saito K, Kohno Y, Sasaki N, Tarsutani O, Nakayima H.** Antigenic determinant on thyroglobulin: comparaison of the reactivities of different thyroglobulin preparations with serum antibodies and T cells of patients with chronic thyroiditis. *J Clin Endocrinol Metab*; 66 : 689 – 95.1988.
- ¹¹⁸ **Tomer Y.** Antithyroglobulin autoantibodies in autoimmune diseases : cross reactive or pathogenic? *Clin Immunol Immunopathol*; 82 : 3-11.1997.
- ¹¹⁹ **Champion BR, rayner DC, Byfield PG, Page KR, Chan CT, Roitt IM.** Critical role of iodination for T-cell recognition of thyroglobulin in experimental murine thyroid autoimmunity. *J immunol*, 139: 3665.1978.
- ¹²⁰ **Van Herle AJ, Vassart G, Dumont JE.** Control of thyroglobulin synthesis and secretion. *N Engl J Med* ; 301 : 239.1979.
- ¹²¹ **Pickett AJ, Jones M, Evans C.** Causes of discordance between thyroglobulin antibody assays. *Ann ClinBiochem* 49:463-467. 2012.
- ¹²² **Jensen EA, Petersen PH, Blaabjerg O, Hansen PS, et al.** Establishment of reference distributions and decision values for thyroid antibodies against thyroid peroxidase (TPOAb), thyroglobulin (TgAb) and the thyrotropin receptor (TRAb). *Clin Chem Lab Med* 44:991-998. 2006.
- ¹²³ **Spencer CA, Hollowell JG, Kazarosyan M, Braverman LE.** National Health and Nutrition Examination Survey III thyroid-stimulating hormone (TSH)-thyroperoxidase antibody relationships demonstrate that TSH upper reference limits may be skewed by occult thyroid dysfunction. *J Clin Endocrinol Metab* 92:4236-4240. 2007.
- ¹²⁴ **Aras G, Gültekin SS, Küçük NO.** The additive clinical value of combined thyroglobulin and antithyroglobulin antibody measurements to define persistent and recurrent disease in patients with differentiated thyroid cancer. *Nucl Med Commun* 29:880-884. 2008.
- ¹²⁵ **Wemeau JL.** Les maladies de la thyroïde, MASSON, 51.2010.
- ¹²⁶ **Mahajan A et Al.** Toxic multinodular goiter. Reference Module in Biomedical Sciences. 2018.
- ¹²⁷ **Duron F.** Les hyperthyroïdies. Cours endocrinologie. FMC. 2003.
- ¹²⁸ **Covelli D, Salvi M.** Hyperthyroidism in Graves' disease. Reference module in Biomedical Sciences. 2018

-
- ¹²⁹ **Bogazzi F, Martino E.** Amiodarone and thyroid. Reference Module in Biomedical Sciences. 2018.
- ¹³⁰ **Sriprapradang C, Bhasipol A.** Differentiating Graves' disease from subacute thyroiditis using ratio of serum free triiodothyronine to free thyroxine. *Annals of Medicine and Surgery.* 10 : 69-72.2016.
- ¹³¹ **Carty DM. Et Al.** Thyroid Stimulating Hormone (TSH) > 2.5 mUI/ml in early pregnancy : prevalence and subsequent outcomes. *European Journal of Obstetric & Gynecology & Reproductive Biology.* 210 : 366- 369.2017.
- ¹³² **Gull WW:** On a cretinoid state supervening in adult life in women. *Trans Clin Soc London;* 7: 180.1874.
- ¹³³ **Reverdin JL:** In discussion. Société médicale de Genève. *Rev Med Suisse Romande;* 2: 539.1882.
- ¹³⁴ **Tonacchera M, Chiovato L.** Systemic Manifestation of Hypothyroidism. Reference Module in Biomedical Sciences. 2017.
- ¹³⁵ **Valdelena A.** Two thyroid stimulating hormone assays correlated in clinical practice show disagreement in subclinical patient. *Clinical Biochemistry.* 53 : 13-18.2018.
- ¹³⁶ **Duron F.** Les hypothyroïdies, cours endocrinologie, FMC. 2001.
- ¹³⁷ **Piras. C. et Al.** Metabolic profile in hyperthyroid patients before and after antithyroid drug treatment. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology.* 93 : 119- 128.2017.
- ¹³⁸ **Benotti J, Benotti N.** Protein-bound iodine, total iodine and butanol extractable iodine by partial automation. *Clin Chem.,* 9:408-416.1963.
- ¹³⁹ **Spencer CA, Takeuchi M, Kazarosyan M.** Current Status and Performance Goals for Serum Thyroglobulin Assays. *Clin Chem,* , 42:164-173.1996.
- ¹⁴⁰ **Spencer CA, Takeuchi M, Kazarosyan M.** Current status and performance goals for serum thyrotropin (TSH) assays. *Clinical Chemistry,* 42:141-145.1996.
- ¹⁴¹ **Kamijō K.** TSH-receptor antibodies determined by the first, second and third generation assays and thyroid-stimulating antibody in pregnant patients with Graves' disease. *Endocr J,* 54:619-624.2007.
- ¹⁴² **Ajjan RA, Weetman AP.** Techniques to quantify TSH receptor antibodies. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab,* 4:461-468.2008.
- ¹⁴³ **D'Herbomez M, Forzy G, Gasser F, Massart C, Beaudonnet A et al.** Clinical evaluation of nine free thyroxine assays: persistent problems in particular populations. *Clin Chem Lab Med* 41:942-947. 2003.
- ¹⁴⁴ **Gabrielle N. et Al.** Performance characteristics of the beckman Coulter UniCel 800 TSH (3rd IS) assay. *Clinica chimica Acta.* 478 : 90-100.2018
- ¹⁴⁵ **Barbier Y.** Les immunodosages de la théorie à la pratique. Paris : les éditions de l'ACOMEN ; 1992.

-
- ¹⁴⁶ **Oliver Jr GC, Parker BM, Brasfield DL, Parker CW.** The mesurment of digitoxin in human serum by radioimmunoassay. *J Clin Invest*; 47: 1035-42.1968.
- ¹⁴⁷ **Motulsky.** Biostatistique : une approche intuitive, de Boeck. P350. 2013.
- ¹⁴⁸ **Hawkins RC, Bedrick T.** Reference interval studies: what is the maximum number of samples recommanded. *Clin Chem Lab Med.* 51 (11):2161-2165.2013.
- ¹⁴⁹ **Jan M. Mrondeel, Jaldira S. Albert Eelco J. schroor, Roger K schinhelm,** Does sampling site influence levels of free thyroxine and thyrotropin determined by a current immunoassay. *Clinical Biochemistry*, 43 771-772. 2010.
- ¹⁵⁰ **Chambon C, Valat C, Besnard JC.** Conservation des prélèvements sanguins destinés aux dosages radioimmunologiques. *Trait d'Union*, 1, 29-32, 1986.
- ¹⁵¹ **Propectus TSH IRMA KIT Beckman Coulter**
- ¹⁵² **Prospectus TgAb RIA KIT Beckman Coulter**
- ¹⁵³ **Prostectus TPO RIA KIT Beckman Coulter**
- ¹⁵⁴ **Prospectus FT4 RIA KIT Beckman Coulter**
- ¹⁵⁵ **Prospectus FT3 RIA KIT Beckman Coulter**
- ¹⁵⁶ **Société Française de Biologie Clinique.** Commission « valeurs de références » :traitement des valeurs de référence et détermination de l'intervalle de référence. *Ann BiolClin.* 41, 63- 79. 1981.
- ¹⁵⁷ **Notas G et Al.** Implementation of thyroid function tests algorithm by clinical laboratories : Afour years experience of good clinical and diagnostic practice in tertiary hospital in Greece. *European Journal of Internal Medicine.* 2018.
- ¹⁵⁸ **Concordet D, Geffre A, Braun JP, Trumel C.** A new approach for the determination of reference intervals from hospital-based data. *Clinica Chimica acta.*405:43-48.2009.
- ¹⁵⁹ **Henry J.** Établissement et validation des intervalles de référence au laboratoire de biologie médicale. *Annales de Biol. Clin.* Vol 69, issue 2, 2011.
- ¹⁶⁰ **Wayne P.A.** CLSI Document C28-A3. Defining, establishing and verifying reference intervals in the clinical laboratory ; approved guideline 28 :2008.
- ¹⁶¹ **Petitclerc C.** Approved recommandation on the theory of reference values. Part 1. The concept of reference values. *J clin. Chem. Biochem.* 25:639-644. 1987.
- ¹⁶² **Solberg SH, Stamm D.** IFCC recommendation: the theory of reference values. Part 4. Control of analytical variation in the production, transfert and application of reference values. *Journ of Automatic Chemistry.* 15 (5): 231-234. 1991.
- ¹⁶³ **Ishihara K. et al.** A global multicenter study on reference value :1. Assesment of methods of derivation and comparaison of reference intervals. *Clinica Chimica Acta.* 467 : 70 -82.2017
- ¹⁶⁴ **Kratzsch J, Fielder G.M., Leichtle A.** New reference interval for thyrotropin and thyroid hormones based on National Academy of Clinical Biochemistry criteria and regular ultrasonography of the thyroid. *Clin Chem.* 51:1480-6. 2005.

-
- ¹⁶⁵ **Hamilton T.E. et al.** Thyrotropin levels in a population with no clinical, autoantibody or ultrasonographic evidence of thyroid disease: implication for the diagnosis of sub clinical hypothyroidism. *J Clin. Endocrinol Metab.* 93: 12224-30. 2008.
- ¹⁶⁶ **Solberg H.E.** Approved recommendation on the theory of reference values. Part 5. Statistical treatment of collected reference values. *J clin. Chem. Biochem.* 25:645-656.1987.
- ¹⁶⁷ **Kratzsch J, Schubert G et al.** Reference intervals for TSH and thyroid hormones are mainly affected by age, body mass index and number of blood leucocytes, but hardly by gender and thyroid autoantibodies during the first decade of life. *Clinical biochemistry.* 41: 1091-1098.2008.
- ¹⁶⁸ **Thienpont L et al.** Report of IFCC working group for Standardization of Thyroid Function Tests ; part 1 : Thyroid Stimulating Hormone. *Clin Chemistry* 56 (6):902-911. 2010.
- ¹⁶⁹ **Donadio S, Pascual A, Dugas M, Ronin C.** Standardisation des immunodosages de la TSH: production de nouveaux calibrateurs et harmonization des tests. *Immuno Anal et Biol Spec.*21: 79-90.2006.
- ¹⁷⁰ **Linde. A et al.** Monitoring the stability of the standardization status of FT4 and TSH assay by using of daily outpatient medians and flagging frequencies. *Clinica Chimica Acta.* 467 : 8-14.2017.
- ¹⁷¹ **Hollowell JG, Staehling NW, FlandreWD, Hannon WH, Gunter EW, CA Spencer, Braverman LE.** Sérum TSH, T (4) et anticorps thyroïdiens dans la population des États-Unis (1988 à 1994): Enquête nationale sur la santé et la nutrition (NHANES III). *J Clin Endocrinol Metab;* 87: 489-499.2002.
- ¹⁷² **Elizabeth H. Hoogendoorn, Ad R. Hermus, Femmie de Vegt, H. Alec Ross et al.** La fonction thyroïdienne et la prévalence des anticorps anti-thyroperoxydase dans une population dont l'apport en iode est suffisamment important: influence de l'âge et le sexe. *Clin Chem;* 52: 104-111.2006.
- ¹⁷³ **Faser CG.** Age-related changes in laboratory test results. Clinical applications. *Drugs Aging.* 3: 246-257.1993.
- ¹⁷⁴ **Hershman JM et al.** Serum thyrotropin and thyroid hormone levels in elderly and middle-aged euthyroid persons. *J Am Geriatr Soc.* 41 : 823-828.1993.
- ¹⁷⁵ **Geoff Beckett. F. Mackenzie.** Thyroid guideline – are thyroid stimulating hormone assays fit for purpose? *Ann Clin Biochem.* 44 : 203-208. 2007.
- ¹⁷⁶ **Carole E,** Exploration de la thyroïde après une TSH modérément élevée. Communication, 24ème colloque Corata. Paris. 2007.
- ¹⁷⁷ **Waise A. Price HC.** The upper limit of the reference range for thyroid stimulating hormone should not be confused with a cut-off to define subclinical hypothyroidism. *Ann Clin Biochem.*46:93-98.2009.
- ¹⁷⁸ **Kventy Jan.** The significance of clinical euthyroidism on reference range for thyroid hormones. *European Journal of Internal Medicine.* 14:315-320. 2005.

-
- ¹⁷⁹ **Leclere J, Shlienger JL, Blanchard P.** Hypothyroïdie fruste de l'Adulte : prise en charge. document HAS. p10. 2007.
- ¹⁸⁰ **Zarković M, Cirić J, Beleslin B, Cirić S, Bulat P, Topalov D, Trbojević B.** D'autres études sur la délimitation de l'hormone de stimulation thyroïdienne (TSH) gamme de référence. *Horm Metab Res*; 43: 970-976.2011.
- ¹⁸¹ **D'Herbomez M, Jarrige V, Darte C.** Intervalles de référence pour la thyrotropine sérique (TSH) et la thyroxine libre (FT4) chez l'adulte à l'aide du système d'immunoessais d'Acces. *Clin Chem Lab Med*; 43: 102-105.2005.
- ¹⁸² **Völzke H, Alte D, Kohlmann T, Ludemann J, Nauck M, John U, Meng W.** Reference intervals of serum thyroid function tests in a previously iodine-deficient area. *Thyroid*; 15:279-285.2005.
- ¹⁸³ **Soldin SJ, Cheng LL, Lam LY, Werner A, Soldin OP et al.** Comparaison de FT4 avec log TSH sur Abbott Architect ci8200: Intervalles pédiatriques de référence pour la thyroxine libre et l'hormone thyroïdienne. *Clin Chim Acta*; 411: 250-252.2010.
- ¹⁸⁴ **Brown SJ, Bremner AP, Hadlow NC et al.** La relation log T4-libre T4 dans une cohorte de la communauté est non linéaire et est influencée par l'âge, le tabagisme et le statut d'anticorps de la peroxydase de la thyroïde. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2016.
- ¹⁸⁵ **Hadlow NC, Rothacker KM, Wardrop R et al.** La relation entre la TSH et la T4 libre dans une grande population est complexe et non linéaire et diffère selon l'âge et le sexe. *J Clin Endocrinol Metab*; 98: 2936-2943.2013.
- ¹⁸⁶ **Fillée C, Cumps J, Ketelslegers JM.** Comparaison de trois immunodosages T4 libre (FT4) et T3 libre (FT3) chez des sujets sains et des patients atteints de maladies thyroïdiennes et de maladies non thyroïdiennes sévères. *Clin Lab*; 58: 725-736.2012.
- ¹⁸⁷ **Strich D, Edri S, Gillis D.** Les valeurs normales actuelles de la TSH et du FT3 chez les enfants sont trop faibles: données provenant de plus de 11 000 échantillons. *J Pediatr Endocrinol Metab*; 25: 245-248.2012.
- ¹⁸⁸ **Wheatland R.** Should the TSH test be utilized in the diagnostic confirmation of suspected hypothyroidism? *Medical Hypotheses*.2010.
- ¹⁸⁹ **Van houck S et al.** IFCC international reference procedure for measurement of free thyroxine in serum. *Clin Chem Lab Med*. 49 (8) /1275-1281.2011.
- ¹⁹⁰ **Thienpont L et al.** Report of IFCC working group for Standardization of thyroid Function Test ; Part 2 : Free thyroxin and Free Triiodothyronine. *Clinical Chemistry*. 56 (6) : 912-920. 2010.
- ¹⁹¹ **Meinhold H, Wenzel KW.** Etudes méthodologiques comparatives avec six kits commerciaux FT4. *Nuc Compact*; 16: 317-320.1985.

- ¹⁹² **Thienpont LM, Van Uytvanghe K, Beastall G, Faix JD et al.** Rapport du groupe de travail de l'IFCC pour la normalisation des tests de la fonction thyroïdienne; partie 2: thyroxine libre et triiodothyronine libre. Clin Chem ; 56: 912-920.2010.
- ¹⁹³ **Faix JD, Miller WG.** Progrès dans la standardisation et l'harmonisation des tests de la fonction thyroïdienne. Am J Clin Nutr; 104. 3: 913-917.2016.
- ¹⁹⁴ **Boulaud MP, Boulaud JY.** Dosage de la thyroxine libre : vers l'uniformisation des résultats ? Immunoanal. Biol. Spéc. 11, 333-341. 1996.
- ¹⁹⁵ **D'herbomez M., Gasser F. Massart C, Sapin R.** Clinical evaluation of nine free thyroxine assays : persistent problems in particular population. Clin Chem Lab Med; 41 (7) : 942-947.2003.
- ¹⁹⁶ **Christophides ND, Shee CP, Midgley CE.** One step labeled antibodies assay for measuring free thyroxin. Assay development and validation. Clin Chem. 38 :11-8.1992.
- ¹⁹⁷ **Ponteziere C, Succari, Menguzzer E et al.** FT4 sérique : étude d'une trousse immunoenzymatique sur ES 22 ; valeurs usuelles chez l'adulte. Immunoanal Biol Spec. 13 :31-34. 1989.
- ¹⁹⁸ **D'Herbomez M, Jarrige V et Darté C.** Reference intervals for serum thyrotropin (TSH) and free thyroxine (FT4) in adult using the Acces Immunoassay System. Clin Chem Lab Med. 43 (1) :102-105.2005.
- ¹⁹⁹ **Thienpont L et al.** Determination of free thyroid hormones. Clin Endo & Metabolism. 27:689-700 .2013.
- ²⁰⁰ **Sapin R et al.** Evaluation of Elecsys Free triiodothyronine assay : relevance of age related reference range.1998.
- ²⁰¹ **Dayan CM , Daniels GH.** Chronic auto-immune thyroiditis. N Engl J Med.335 : 99-107.1996.
- ²⁰² **Ericsson UB, Christensen SB et Thorell JI.** A high prevalence of thyroglobulin autoantibodies in adults with and without thyroid diseases as measured with a sensitive solid-phase immunosorbant radioassay.37 :154-162. 1985.
- ²⁰³ **Alan H.B. Wu.** Quality specifications in thyroid diseases. Clinica Chimica Acta. 346: 73–77.2004.
- ²⁰⁴ **Midgley J.** Direct and indirect free thyroxine assay methods: theory and practice. Clin Chem. 47 :1353–1363.2001
- ²⁰⁵ **Toubert ME.** Exploration des marqueurs de l'auto-immunité thyroïdienne. La thyroïde, 2e édition, Elsevier. 289-92. 2001
- ²⁰⁶ **A. Quinn , C.M. Tam , T.L. Wong , K.W. Poon , S.T. Leung .** Thyroid autoimmunity and thyroid hormone reference intervals in apparently healthy Chinese adults. Clinica Chimica Acta. 405: 156 –159.2009.

-
- ²⁰⁷ **Landau-Levine M, Way BA, Clutter WE, Scott MG, Gronowski AM.** Antibody interference with the Abbott AxSym immunoassay for thyroid-stimulating hormone. *Clinica Chimica Acta.* 281 : 177– 80.1999.
- ²⁰⁸ **Spencer CA, Bergoglio LM, Kazarosyan M, Fatemi S, LoPresti JS.** Clinical impact of thyroglobulin (Tg) and Tg autoantibody method differences on the management of patients with differentiated thyroid carcinomas. *J Clin Endocrinol Metab.* 90 : 5566–75.2005.
- ²⁰⁹ **A. Eskes, M. Wiersinga.** Amiodarone and thyroid. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism.* 23: 735–751.2009.
- ²¹⁰ **J.-L. Schlienger, R. Sapin , S. Vinzio , F. Luca , B. Goichot.** Qu' est ce qu ' un taux de TSH élevé? *Immunoanalyse et biologie spécialisée .*22 : 160 –166. 2007.
- ²¹¹ **Mark P. J. Vanderpump.** How should we manage patients with mildly increased serum thyrotrophin concentrations? *Clinical Endocrinology.* 72: 436–440.2010.
- ²¹² **Nazarpour S. et al .** Establishment of Trimester specific hormone during pregnancy. *Clinical biochemistry.* 53 : 49-54.2018.
- ²¹³ **Henny Joseph.** Etablissement et validation des intervalles de référence au laboratoire de biologie médicale. *Ann. Biol. Clin ;* 69 (2) : 229-37.2011

ANNEXE:

FICHE PATIENT

Fiche numéro

L L L L

PARAMETRE	MODALITE	CODAGE
<i>Date de recrutement</i>		L L L L L L L L L L
<i>Prenom</i>		
<i>Date de naissance</i>		L L L L L L L L L L
<i>Wilaya de naissance</i>		L L
<i>Wilaya de residence</i>		L L
<i>Age (ans)</i>		L L
<i>Sexe</i>	1. Homme 2.Femme	L
<i>Situation familiale</i>	1. Celibataire 2. Marie 3. Divorcé 4.Veuf 5. Séparé	L
<i>Profil femme</i>	1. Activité génitale 2. Grossesse 3. Ménopause 4. Trt substitutif	L
<i>Nombre d'enfant</i>	G L P L	L L
<i>Poids</i>		L L L
<i>Taile</i>		L L L
<i>IMC</i>		L L L
<i>Antécédent Perso thyroïde</i>	0. NON 1. OUI	L
<i>Antécédent familiaux thyroïde</i>	0. NON 1. OUI	L
<i>Consommation iode</i>	0. NON 1. OUI	L
<i>Presence pathologie autoimmune</i>	0. NON 1. OUI	L
<i>Examen du cou</i>	0. PAS DE GOÏTRE 1. PALPABLE 2. VISIBLE	L
<i>Consentement prelevement</i>	0. NON 1. OUI	L
<i>Statut protocole</i>	0.INCOMPLET 1. COMPLET	L
<i>Resultat ACT</i>		L L L L
<i>Resultat TPO</i>		L L L
<i>Resultat TSH</i>		L L L
<i>Retenu ACT/TPO</i>	0. NON 1. OUI	L
<i>Retenu TSH/FT4/FT4/FT3</i>	0. NON 1. OUI	L
<i>Résultat FT4</i>		L L L
<i>Résultat FT3</i>		L L L

ÉTABLISSEMENT DES INTERVALLES DE REFERENCE ET DES VALEURS LIMITES DANS L'EXPLORATION BIOLOGIQUE DE LA THYROÏDE EN ALGÉRIE

Introduction :

La pathologie thyroïdienne est très fréquente dans le monde, elle revête un aspect clinique très complexe. La maladie thyroïdienne constitue un diagnostic de première ligne ou un diagnostic d'élimination.

La conduite à tenir pratique commence toujours par l'exploration biologique de l'hormone hypophysaire TSH et les hormones thyroïdiennes (HT) FT4 et FT3 puis par la recherche d'anticorps antithyroïdiens dans un but étiologique.

Devant ce large éventail biologique, les méthodes de dosages immunométriques (EIA ou RIA) utilisant des anticorps monoclonaux se sont imposées comme méthodes de références unanimement admises pour l'ensemble de ces paramètres. La RIA étant exclusivement et largement utilisée dans le laboratoire de médecine nucléaire surtout en Algérie.

La principale recommandation de la National Academy of Clinical Biochemistry (NACB) est d'établir de façon rigoureuse des intervalles et des valeurs de référence pour une population donnée et de ne pas prendre en compte les valeurs proposées par les fabricants des trousse de dosages, ces dernières établies à titre indicatif selon leur population locale.

Objectif :

Définir les intervalles de références de la TSH, FT4, FT3 et les valeurs limites de négativité pour les anticorps antiperoxydase (TPOAb) et anticorps antithyroglobuline (TgAb) chez la population algérienne.

Méthode :

C'est une étude descriptive transversale des paramètres biologiques thyroïdiens (TSH, FT4, FT3, TPOAb et TgAb) de la population algérienne adulte saine, ambulatoire.

Résultats :

Cette étude a permis de présenter les valeurs suivantes : TSH [0.29 - 3.84] μ UI/ml, FT4 [9.58 – 22.18] pmol/L, FT3 [2.37 – 7.1] pmol/L ; la valeur seuil de normalité des TPOAb est de 18.86 UI/ml alors que pour les TgAb elle est de 41.52 UI/ml. Ces chiffres peuvent être utilisés dans tous les laboratoires de médecine en Algérie et sont de référence pour le clinicien afin de donner un diagnostic précis pour son patient (sujets jeunes et adultes ambulatoires) et de mieux évaluer son état.

Mots clés : Thyroïde – TSH – Intervalle.

ESTABLISHMENT OF REFERENCE INTERVALS AND LIMIT VALUES IN THE BIOLOGICAL EXPLORATION OF THYROID IN ALGERIA

Introduction:

Thyroid pathology is very common in the world; it has a very complex clinical aspect. Thyroid disease is a first-line diagnosis or diagnosis of elimination.

Practical action always begins with the biological exploration of the pituitary hormone TSH and the thyroid hormones (HT) FT4 and FT3 and then the search for antithyroid antibodies for an etiological purpose.

In view of this wide biological range, immunometric assay methods (EIA or RIA) using monoclonal antibodies have established themselves as universally accepted reference methods for all these parameters. RIA is exclusively and widely used in the nuclear medicine laboratory, especially in Algeria.

The main recommendation of the National Academy of Clinical Biochemistry (NACB) is to rigorously establish intervals and reference values for a given population and not to take into account the values proposed by the manufacturers of the assay kits established for information purposes according to their local population.

Goal:

Define the reference ranges of TSH, FT4, FT3 and the negative limit values for antiperoxidase antibodies (TPOAb) and antithyroglobulin antibodies (TgAb) in the Algerian population.

Method :

It is a descriptive cross-sectional study of the thyroid biological parameters (TSH, FT4, FT3, TPOAb and TgAb) of the healthy, ambulatory adult Algerian population.

Results:

Our study allowed to present the following values: TSH [0.29 - 3.84] μ UI / ml, FT4 [9.58 - 22.18] pmol / l, FT3 [2.37 - 7.1] pmol / l; the normal threshold value of TPOAb is 18.86 IU / ml whereas for TgAb it is 41.52 IU / ml. These values can be used in all medical laboratories in Algeria and are a reference for the clinician to provide a precise diagnosis for his patient (young and adult outpatients) and better assess his condition.

Keywords: Thyroid - TSH - Interval

إنشاء مجالات الثقة و القيم الحدية في التحاليل البيولوجية للغدة الدرقية عند الجزائريين

المقدمة:

أمراض الغدة الدرقية موجودة بكثرة في العالم، و أعراضها كثيرة و مختلفة. إن مرض الغدة الدرقية يبحث عنه كأول إستكشاف طبي عند المعاينة وقد يكون البحث عنه إقصائيا.

الجانب العملي في البحث عن مرض الغدة الدرقية يبدأ بالإستكشاف عن طريق تحليل الدم TSH، و من ثم تحليل الدم FT4 و FT3، و بعدهما البحث عن المضادات الحيوية الموجهة ضد الغدة الدرقية.

ومع كثرة عدد التحاليل المطلوبة، ظهرت التحاليل الإنومترية بإستعمال المضادات المماثلة وأصبحت الطريقة المثالية لهذه التحاليل الدموية، خاصة منها لاتي تستعمل الإشعاعات والتي تتواجد بكثرة في مختبرات الطب النووي في الجزائر.

إن الأكاديمية الوطنية للبيوكيمياء الكلينيكي NACB بإستعمال مجال الثقة للهرمونات مناسبة لسكان المنطقة أو البلد دون الأخذ بعين الإعتبار مجالات الثقة التي يدلي بها مصنعو أدوات التحليل.

الهدف:

تعيين وتحديد مجالات الثقة لTSH، FT3، FT4 و القيم الحدية لسلبية المضادات الحيوية TPOAb، TGAb الموجهة ضد الغدة الدرقية للسكان الجزائريين.

الطريقة:

قمنا بدراسة أفقية وصفية لتحاليل الدم TSH، FT4، FT3، TPOAb، TGAb عند الأشخاص الجزائريين.

النتائج :

تمكنت دراستنا من إيجاد مجالات الثقة الخاصة ب

$\mu\text{UI/ml}$ [0.29–3.84] TSH

pmol/l [9.58–22.18] FT4

pmol/l [2.37–7.1] FT3

القيمة الحدية القصوى ل

UI/l 18.86 TPOAb

UI/l 41.52 TGAb

هذه المجالات والأرقام يمكن إستعمالها و إستحداثها في المختبرات الجزائرية وستكون أساسية لتحديد أمراض الغدة الدرقية من طرف الطبيب

الكلمات الإستدلالية: غدة درقية - TSH - مجال الثقة