

# Dosage de la thyroglobuline dans les liquides de rinçage d'aiguille de cytoponction ganglionnaire : influence des conditions pré-analytiques

## *Thyroglobulin assay in fluids from lymph node fine needle-aspiration washout: influence of pre-analytical conditions*

Florence Boux de Casson<sup>1,8</sup>

Valérie Moal<sup>1,8</sup>

Anne-Sophie Gauchez<sup>2,8</sup>

Marie-Pierre Moineau<sup>3,8</sup>

Corinne Sault<sup>4,8</sup>

Marie-Hélène Schlageter<sup>5,8</sup>

Catherine Massart<sup>6,7,8</sup>

<sup>1</sup> Département de biochimie et génétique, CHU, Angers, France

<sup>2</sup> Département de biochimie toxicologie pharmacologie, CHRU, Grenoble, France

<sup>3</sup> Département de biochimie et pharmacologie toxicologie, CHU, Brest, France

<sup>4</sup> Laboratoire Biomnis, Lyon, France

<sup>5</sup> Unité de biologie cellulaire, Hôpital Saint-Louis, AP-HP, Paris, France

<sup>6</sup> Laboratoire d'hormonologie, Service de biochimie-toxicologie, CHU de Pontchaillou, Rennes, France

<sup>7</sup> Centre d'investigation clinique plurithématique, Inserm 1414, CHU de Pontchaillou, Rennes, France

<sup>8</sup> Groupe de biologie spécialisée de la Société française de médecine nucléaire, Paris, France  
<flbouxdecasson@chu-angers.fr>

**Résumé.** L'objectif de cette étude était d'évaluer les facteurs pré-analytiques contribuant à l'incertitude de mesure de la thyroglobuline dans les liquides de rinçage d'aiguille de cytoponction de ganglions cervicaux. Nous avons étudié la stabilité pré-analytique de 41 échantillons préparés avec des solutions concentrées de thyroglobuline (liquide de rinçage ou étalon certifié) diluées dans du sérum physiologique ou un tampon contenant 6 % d'albumine. Dans ce tampon, la concentration mesurée de thyroglobuline n'a pas évolué au cours du temps dans toutes les conditions testées. Dans le sérum physiologique sans albumine, les pourcentages de récupération de la thyroglobuline dépendaient de la concentration initiale des échantillons et des modalités de leur conservation (dans des tubes à essai standards, récupération en moyenne de 56 % après 3 heures et 19 % après 24 heures pour des concentrations comprises entre 2 et 183 µg/L ; récupération de 95 % pour une concentration de 5 656 µg/L après 3 heures ou 24 heures à température ambiante). Nous montrons que ces résultats sont liés à une adsorption non spécifique de la thyroglobuline dans les tubes de stockage, qui dépend de la concentration protéique de l'échantillon. La faible quantité de protéines plasmatiques qui contamine les liquides de rinçage peut s'avérer insuffisante pour empêcher cette adsorption. En conclusion, cette adsorption non spécifique contribue fortement à l'incertitude de mesure de la thyroglobuline si l'échantillon est recueilli dans le sérum physiologique. Il est donc recommandé d'utiliser, pour le rinçage des aiguilles de ponction de ganglions, un tampon, contenant des protéines, fourni par le laboratoire.

**Mots clés :** *thyroglobuline, cytoponction, cancer différencié, thyroïde, liquide de rinçage, adsorption non spécifique*

**Abstract.** The aim of this study was to evaluate the pre-analytical factors contributing to uncertainty in thyroglobulin measurement in fluids from fine-needle aspiration (FNA) washout of cervical lymph nodes. We studied pre-analytical stability, in different conditions, of 41 samples prepared with concentrated solutions of thyroglobulin (FNA washout or certified standard) diluted in physiological saline solution or buffer containing 6% albumin. In this buffer, over time, no changes in thyroglobulin concentrations were observed in all storage conditions tested. In albumin free saline solution, thyroglobulin recovery rates depended on initial sample concentrations and on modalities of their conservation (in conventional storage tubes, recovery mean was 56% after 3 hours-storage at room temperature and 19% after 24 hours-storage for concentrations ranged from 2 to 183 µg/L; recovery was 95%, after 3 hours or 24 hours-storage at room temperature, for a concentration of 5,656 µg/L). We show here that these results are due to non-specific adsorption of thyroglobulin

Article reçu le 30 avril 2016,  
accepté le 20 mai 2016

**Tirés à part :** F. Boux de Casson

in storage tubes, which depends on sample protein concentrations. We also show that possible contamination of fluids from FNA washout by plasma proteins do not always adequately prevent this adsorption. In conclusion, non-specific adsorption in storage tubes strongly contributes to uncertainty in thyroglobulin measurement in physiological saline solution. It is therefore recommended, for FNA washout, to use a buffer containing proteins provided by the laboratory.

**Key words:** thyroglobulin, fine-needle-aspiration, differentiated thyroid cancer, washout, non-specific adsorption

Les recommandations françaises, européennes et américaines concernant la prise en charge des cancers thyroïdiens publiées entre 2006 et 2009 [1-4] ont été reprises et complétées dans un guide de bonnes pratiques publié en 2011 sous l'égide de la Société française d'endocrinologie (SFE) et du Groupe de recherche sur la thyroïde (GRT) [5, 6] et en 2013 sous l'égide de l'*European thyroid association* (ETA) [7]. Une revue des recommandations américaines a été réalisée en 2015 et publiée en 2016 [8].

Ces guides recommandent d'associer à toute ponction de ganglion suspect de métastase d'un cancer thyroïdien différencié, un dosage de la thyroglobuline dans le liquide de rinçage d'aiguille de cytoponction ganglionnaire. Ce dosage trouve donc sa place dans l'arbre décisionnel de suivi du cancer thyroïdien différencié [9], même si de nombreux facteurs méthodologiques et de nombreuses sources d'incertitudes de mesure tant pré-analytiques qu'analytiques peuvent influencer les résultats [10, 11].

Les dosages de thyroglobuline sont réalisés à l'aide de trousse commerciales, raccordées au standard CRM (*Certified reference material*) 457, et destinées initialement à des dosages sériques. Le biologiste doit s'assurer que les modifications qui sont apportées aux méthodes de dosages, pour les adapter à l'analyse des liquides de rinçage d'aiguille, permettent de garantir la fiabilité du résultat. Même si une attention particulière doit être portée sur la phase analytique, aucun des aspects de la phase pré-analytique ne doit être négligé. Notre travail, s'inscrivant dans ce contexte, a été d'étudier la stabilité d'échantillons préparés avec les solutions de rinçage d'aiguille de cytoponction préconisées, sérum physiologique ou tampon protéiné [5], en faisant varier les conditions pré-analytiques.

## Matériel et méthodes

### Préparation des échantillons

Nous avons utilisé deux types de solutions : une solution de rinçage d'aiguille de cytoponction, dans du sérum physiologique (NaCl 0,9 %, Aguetant) obtenue à l'occasion de l'exploration d'un nodule thyroïdien (concentration de

thyroglobuline = 37 430  $\mu\text{g/L}$ ), et une solution de thyroglobuline humaine certifiée (CRM 457) titrée à  $0,324 \pm 0,016$  g/L et distribuée par Sigma-Aldrich.

Ces solutions ont été diluées au laboratoire : dans du sérum physiologique, sans albumine bovine ou avec des concentrations d'albumine bovine (Sigma, A 6003-10G) de 0,02 à 2 g/L, et dans un tampon (Phosphate-Buffered Saline [PBS] Dominique Dutscher P04-53500 1x) contenant de l'albumine bovine à 6 %.

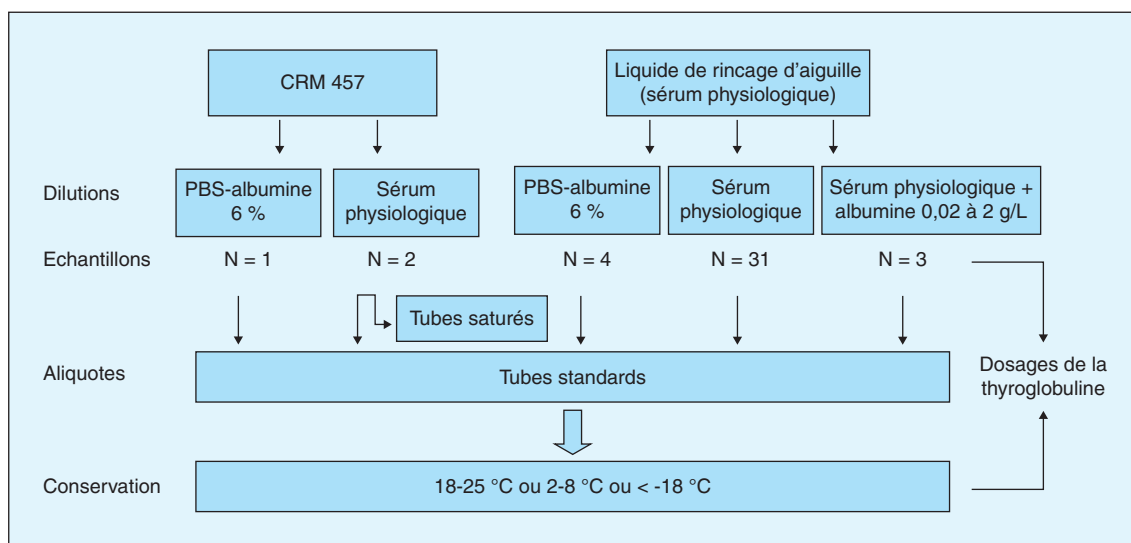
Les échantillons obtenus par dilution du liquide de rinçage d'aiguille de cytoponction dans le sérum physiologique contenaient moins de 0,01 g/L de protéines (dosage par méthode colorimétrique automatisée pour le dosage dans l'urine et le liquide céphalo-rachidien Beckman Coulter) (*figure 1*).

### Conservation des échantillons

Quarante et un échantillons ont été divisés en fractions aliquotes de 1 mL immédiatement après leur préparation et conservés dans différentes conditions de température (ambiante : 18-25 °C, 2-8 °C, < -18 °C) et de durée. À l'exception d'un échantillon conservé dans des tubes à essai en polystyrène préalablement saturés par de l'albumine, tous les échantillons (n = 40) ont été conservés dans des tubes à essai standards en polystyrène (Test Tube, 13  $\times$  75, Globe Scientific). La saturation des tubes a été réalisée par contact pendant 24 heures à  $5 \pm 3$  °C avec le tampon PBS-albumine (*figure 1*).

### Dosages

La thyroglobuline a été dosée à l'aide de la méthode immunométrique sandwich en phase homogène Thermo Scientific Brahms hTg sensitive Kryptor (coefficient de variation de la fidélité intermédiaire < 6 % pour des concentrations sériques > 1  $\mu\text{g/L}$ , seuil de quantification = 0,17  $\mu\text{g/L}$ ). Cette méthode est raccordée au standard européen CRM 457. Les dosages ont été réalisés immédiatement après la préparation des échantillons ( $t_0$ ) puis après un délai de 3 heures à 1 an. Les pourcentages de récupération (R %) ont été calculés ( $R \% = 100 \times [\text{concentration mesurée}/\text{concentration à } t_0]$ ).



**Figure 1.** Modalités de préparation et de conservation des échantillons.

### Comparaisons inter-laboratoires

Des comparaisons inter-laboratoires ont été réalisées sur des fractions aliquotées conservées à une température  $< -18^{\circ}\text{C}$  pendant une durée de 7 à 17 jours. Ces fractions ont été préparées par dilution de l'étalon CRM 457 (cible  $100\ \mu\text{g/L}$ ). Dans le cadre de ces comparaisons, les laboratoires ont utilisé des méthodes immunométriques raccordées au CRM 457, automatisées (Thermo Scientific Brahms hTg sensitive Kryptor, Beckman Coulter DxI 800, Roche Modular) ou manuelles (Cisbio Thyroglobuline Irma, Thermo Scientific Brahms Tg-plus RIA). Les échantillons ont été dosés immédiatement après décongélation, puis après avoir laissé les échantillons 40 minutes et 3 heures à température ambiante.

## Résultats

### Échantillons préparés avec du sérum physiologique sans albumine

#### Tubes à essai standards

Avec les échantillons préparés à partir du liquide de rinçage d'aiguille (*tableau 1 et figure 2*), nous avons obtenu des pourcentages de récupération de la thyroglobuline, compris entre 9 et 72 % pour les concentrations initiales ( $t_0$ ) de thyroglobuline inférieures à  $200\ \mu\text{g/L}$  et entre 51 et 99 % pour les concentrations initiales de thyroglobuline, supérieures à  $200\ \mu\text{g/L}$ , dans les différentes conditions de conservation des échantillons étudiées et pour des durées de conservation comprises entre 3 heures et 72 heures. La *figure 4* illustre, en coordonnées logarithmiques, la relation entre la concentration initiale de thyroglobuline et la concentration de thyroglobuline non dosée (non récupérée) après 3 heures et 24 heures. Les équations de tendance ont été calculées.

Avec les échantillons préparés à partir du CRM 457, nous avons obtenu des pourcentages de récupération de la thyroglobuline compris entre 8 et 73 % pour une concentration initiale de  $80\ \mu\text{g/L}$  (*tableau 2 et figure 3* : tubes non saturés) et des durées de conservation des échantillons comprises entre 3 heures et 13 jours.

#### Tubes saturés par de l'albumine

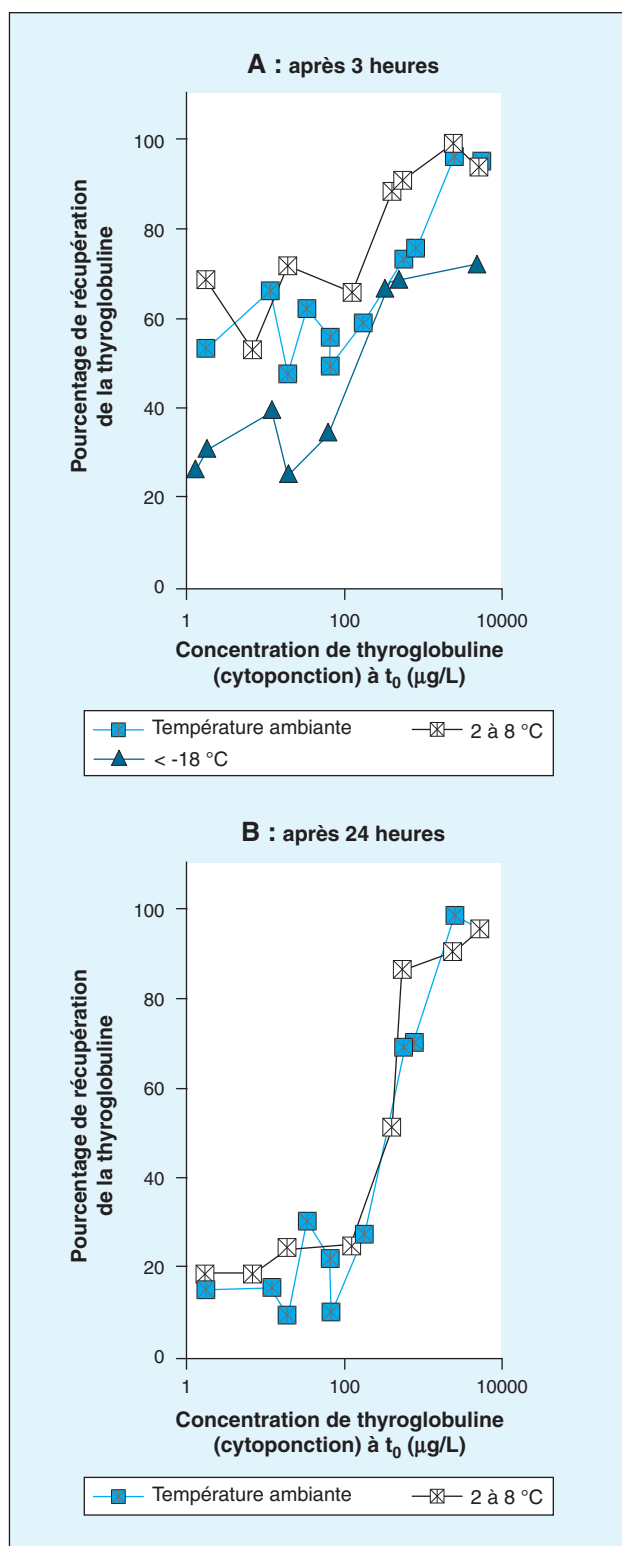
Les fractions aliquotées préparées à partir du CRM 457 (concentration à  $t_0$  :  $120\ \mu\text{g/L}$ ) conservées dans des tubes préalablement saturés (*figure 3* : tubes saturés), présentaient des pourcentages de récupération après 3 heures, 24 heures et 13 jours, compris entre 97 et 102 %.

### Échantillons préparés avec du sérum physiologique-albumine

Avec les échantillons préparés à partir du liquide de rinçage d'aiguille (concentrations initiales de thyroglobuline :  $153\ \mu\text{g/L}$ ,  $578\ \mu\text{g/L}$  et  $1\ 029\ \mu\text{g/L}$ ), nous avons obtenu des pourcentages de récupération, après 3 heures à température ambiante, compris entre 74 et 78 % en présence d'albumine à  $0,02\ \text{g/L}$ , et entre 87 et 91 % en présence d'albumine à  $0,2\ \text{g/L}$ . Pour une concentration d'albumine de  $2\ \text{g/L}$ , les résultats de thyroglobuline des trois échantillons ne différaient pas de plus de  $\pm 2\%$  après trois heures à température ambiante (*figure 5*) et de  $\pm 5\%$  après 48 heures à une température  $< -18^{\circ}\text{C}$  (résultats non représentés).

### Échantillons préparés avec du tampon PBS-albumine

Les pourcentages de récupération des échantillons préparés avec le liquide de rinçage d'aiguille, dilué dans le tampon PBS-albumine, sont présentés dans le *tableau 1*. Après



**Figure 2.** Pourcentages de récupération de la thyroglobuline (cytoponction) dans le sérum physiologique après 3 heures (A) et 24 heures (B) en fonction de la concentration initiale de thyroglobuline et de la température de conservation des échantillons.

une conservation de 24 heures au maximum, à température ambiante, à  $5 \pm 3 \text{ }^\circ\text{C}$ , ou encore à une température  $< -18 \text{ }^\circ\text{C}$ , ces pourcentages variaient de 94 à 106 % pour des concentrations initiales de thyroglobuline comprises entre 2 et 26  $\mu\text{g/L}$ .

Après 24 heures, l'échantillon de CRM 457 dilué (concentration initiale : 128  $\mu\text{g/L}$ ) a présenté des pourcentages de récupération compris entre 99 et 101 %. Pour le même échantillon, le pourcentage de récupération était, après une conservation à une température  $< -18 \text{ }^\circ\text{C}$  de 7 semaines et de 12 mois, respectivement de 101 % et de 93 % (tableau 2).

### Comparaison inter-laboratoires

#### Immédiatement après décongélation

Échantillons préparés avec du sérum physiologique sans albumine : les pourcentages de récupération étaient compris entre 2 et 11 % de la valeur cible (100  $\mu\text{g/L}$ ) selon la méthode de dosage utilisée.

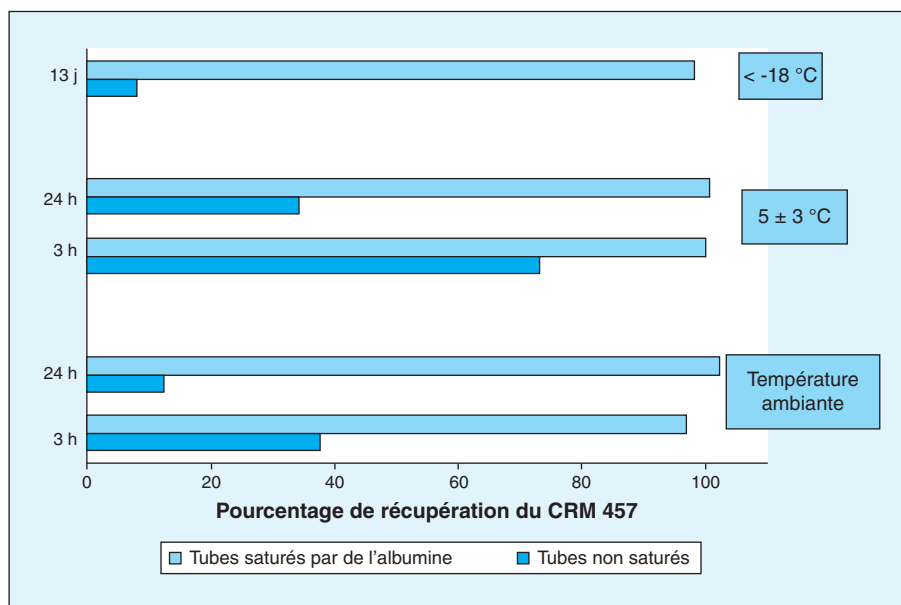
Échantillons préparés avec du tampon PBS-albumine : les concentrations étaient proches de la valeur cible (100  $\mu\text{g/L}$ ) quelle que soit la méthode de dosage et se situaient entre 86  $\mu\text{g/L}$  (méthode Roche) et 128  $\mu\text{g/L}$  (méthode Thermo Scientific Kryptor).

#### Après un délai de 40 minutes et 3 heures à température ambiante

Les pourcentages de récupération, calculés en prenant comme concentration initiale la concentration après décongélation étaient compris entre 32 et 113 % (figure 6).

## Discussion

La mesure de la thyroglobuline dans les liquides de rinçage des aiguilles de cytoponction constitue un outil précieux dans le diagnostic des métastases ganglionnaires de cancers différenciés de la thyroïde [9]. Dans ce travail, nous avons étudié les facteurs pré-analytiques d'incertitude de cette mesure. Nous nous sommes placés dans des conditions de routine de laboratoire en utilisant des échantillons dont la composition se rapproche de celles des liquides de rinçage d'aiguille, lorsqu'ils sont réalisés dans les conditions recommandées par le consensus français. Nous avons utilisé des solutions concentrées en thyroglobuline que nous avons diluées soit dans du sérum physiologique sans albumine soit dans un tampon PBS contenant 6 % d'albumine assimilable à un tampon de dosage. La dilution de pools sériques, ou de matériaux de contrôle interne de la qualité, dans du sérum physiologique, aboutit à des concentrations en protéines totales qui peuvent être très supérieures à celles observées dans les cytoponctions [12]. Pour éviter ce biais, nous avons choisi d'utiliser des solutions obtenues par rinçage d'aiguille de cytoponction de nodules thyroïdiens dans du sérum physiologique et de confirmer nos résultats



**Figure 3.** Pourcentages de récupération du CRM 457 dans le sérum physiologique en fonction des modalités de conservation des échantillons.

**Tableau 1.** Pourcentages de récupération de la thyroglobuline (Tg) obtenue par cytoponction en fonction de la nature de l'échantillon et des modalités de sa conservation.

	Matrice					
	Sérum physiologique			PBS-albumine		
	Tg à t <sub>0</sub>	Récupération % après		Tg à t <sub>0</sub>	Récupération % après	
Température de conservation des échantillons (°C)	µg/L (n : nombre d'échantillons)	3 heures (m : moyenne)	24 * / 72 # heures (m : moyenne)	µg/L (n : nombre d'échantillons)	3 heures (m : moyenne)	24 heures (m : moyenne)
18-25	2 à 183 (n = 7) 589 806 2 589 5 656	47 à 66 (m = 56) 73 75 96 95	9 à 30* (m = 19) 69 * 70 * 98 * 95 *	2 à 26 (n = 4)	94 à 101 (m = 98)	97 à 104 (m = 102)
2-8	2 à 127 (n = 4) 407 566 2 543 5 385	53 à 72 (m = 65) 88 91 99 94	19 à 51* (m = 28) 51 * 86 * 91 * 96 *	2 à 26 (n = 4)	98 à 104 (m = 100)	102 à 106 (m = 104)
< -18	1 à 65 (n = 5) 352 512 4 845 23 233 352 3 492	25 à 39 (m = 31) 66 69 72 NR NR NR NR	NR NR NR 26 # 82 # 75 # 90 #	2 à 26 (n = 4)	NR	96 à 99 (m = 98)

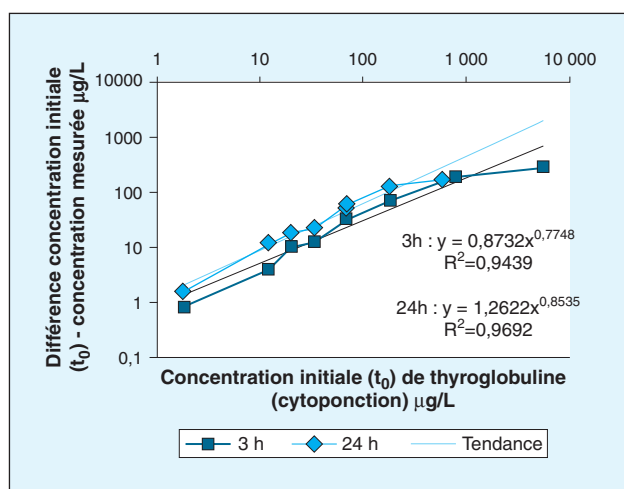
NR : non réalisé.

avec des préparations de thyroglobuline humaine certifiée. Au total 38 échantillons (sur 41) ont été préparés dans ces conditions. Leur concentration initiale de thyroglobuline était comprise entre 1 et 5 656 µg/L.

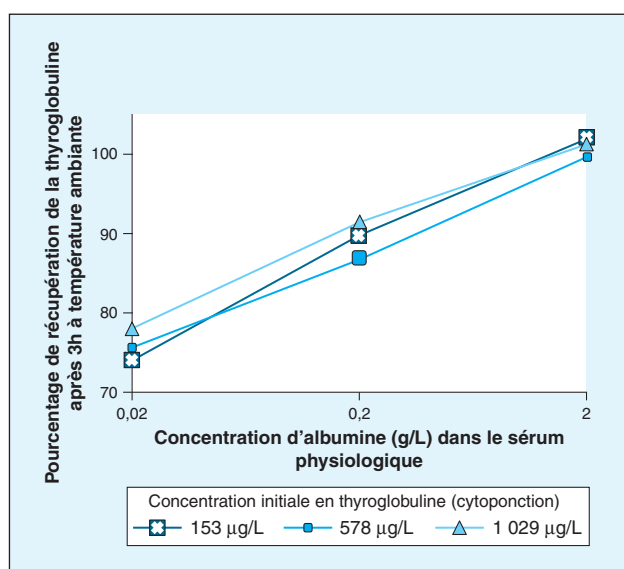
Nos résultats révèlent des différences importantes de comportement des échantillons selon les matrices utilisées lorsqu'ils sont conservés dans des tubes standards en polystyrène, mais pas de différence de comportement entre le

**Tableau 2.** Pourcentages de récupération du CRM 457 en fonction de la nature de l'échantillon et des modalités de sa conservation.

Température de conservation	Matrice		PBS-albumine	
	Sérum physiologique			
	Thyroglobuline $\mu\text{g/L}$ à $t_0$	Récupération % (durée de conservation)	Thyroglobuline $\mu\text{g/L}$ à $t_0$	Récupération % (durée de conservation)
18-25 °C	80	38 (3 h) 12 (24 h)	128	101 (24 h)
2-8 °C	80	73 (3 h) 34 (24 h)	128	99 (24 h)
< -18 °C	80	8 (13 jours)	128	101 (7 semaines) 93 (12 mois)



**Figure 4.** Concentrations de thyroglobuline (cytoponction) non récupérée en fonction de la concentration initiale de thyroglobuline.



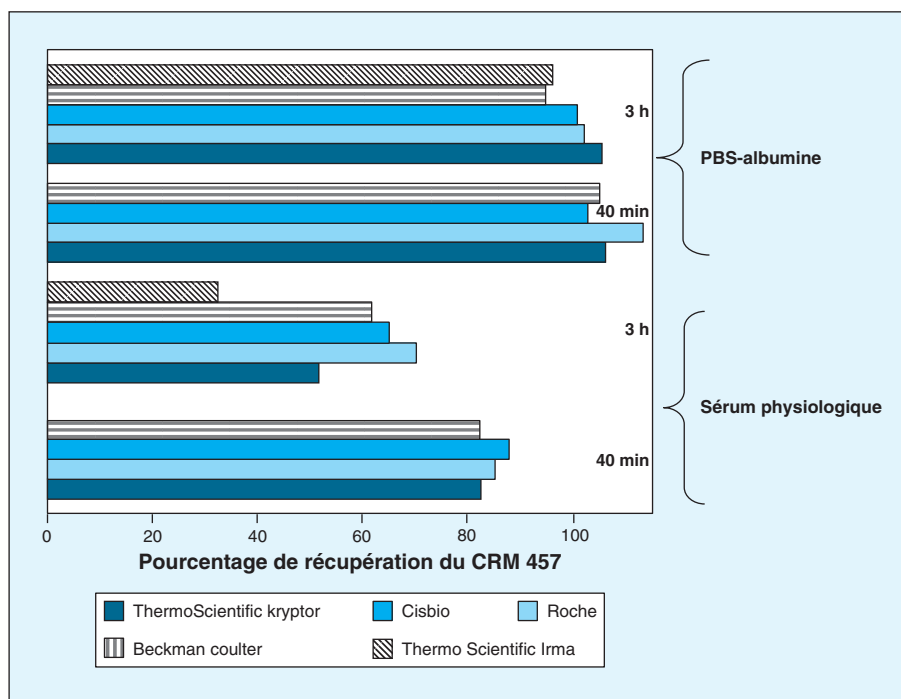
**Figure 5.** Pourcentages de récupération de la thyroglobuline (cytoponction) après 3 heures à température ambiante, pour 3 échantillons, en fonction de la concentration d'albumine dans l'échantillon (matrice sérum physiologique).

CRM 457 et la thyroglobuline obtenue par cytoponction. Ces différences de comportement en fonction des matrices ont été observées avec les 5 méthodes utilisées dans le cadre d'une comparaison inter-laboratoires, ce qui rend peu probable l'influence des anticorps de dosage inclus dans les trousse des différents fabricants.

En milieu tamponné protéiné (PBS-albumine), les concentrations de thyroglobuline (de 2 à 128  $\mu\text{g/L}$ ) demeurent inchangées après un stockage de 24 heures à température ambiante ou à  $5 \pm 3$  °C et une congélation de 12 mois à une température inférieure à -18 °C. Les écarts observés (8 % au maximum) relèvent de l'imprécision analytique.

En revanche, en matrice non protéinée (sérum physiologique), les valeurs de thyroglobuline évoluent de façon très différente selon la concentration initiale des échantillons. Aux plus faibles concentrations de thyroglobuline, les concentrations mesurées chutent rapidement alors que les résultats restent inchangés au cours du temps, quelles que soient les modalités de conservation, aux concentrations les plus élevées (5 656  $\mu\text{g/L}$  dans notre étude). Ces résultats sont caractéristiques des phénomènes d'adsorption non spécifiques sur des surfaces inertes. En effet, nous avons montré que les pourcentages de récupération, à l'instar des pourcentages d'adsorption [13], sont indépendants des concentrations de thyroglobuline et constants jusqu'à un seuil variable selon les conditions opératoires. Dans les conditions de notre étude, les pourcentages de récupération sont de l'ordre de 56 % après 3 heures à température ambiante et de 19 % après 24 heures à température ambiante, pour des concentrations inférieures à 200  $\mu\text{g/L}$ . Nous avons également montré qu'une relation de type  $y = ax^b$ , caractéristique des phénomènes d'adsorption, relie, jusqu'à ce seuil, la quantité de protéines non dosées à la concentration de thyroglobuline présente dans l'échantillon. Passé ce seuil dit « d'indépendance », le pourcentage de protéines non dosées, comme celui des protéines adsorbées devient dépendant de la concentration et décroît au fur et à mesure que la concentration augmente [13].

L'adsorption résulte d'interactions hydrophobes entre les structures non polaires des protéines et une surface inerte, jusqu'au seuil d'indépendance, puis d'interactions entre les protéines elles-mêmes au-delà de ce seuil. Le seuil



**Figure 6.** Pourcentages de récupération du CRM 457 (concentration théorique 100  $\mu\text{g/L}$ ) après décongélation, dosé par 5 méthodes différentes.

« d'indépendance » correspondrait à la concentration de protéines nécessaires pour former un film monomoléculaire sur la totalité de la surface plastique exposée [13]. Ces phénomènes d'adsorption peuvent être mis à profit, en immunoanalyse, pour fixer des antigènes ou des anticorps sur un support solide (phase solide) comme les parois d'un puits ou d'un tube. L'adsorption peut aussi être indésirable, soit parce que la protéine à doser est plus ou moins complètement adsorbée sur la phase solide et n'est plus détectée, comme dans notre étude, soit parce qu'elle génère un bruit de fond. Les phénomènes d'adsorption sur une phase solide sont critiques dès lors que sont dosées, dans un milieu peu concentré en protéines, de très faibles quantités d'un analyte, par immunoanalyse [14], ou à l'aide d'autres types de méthode [15]. L'adsorption est d'intensité très variable selon la nature de la phase solide [13, 16] et la nature des protéines [13]. Pour éviter cette adsorption indésirable, il est possible de bloquer les sites libres de la phase solide à l'aide d'un agent bloquant. Les agents bloquants classiquement utilisés sont la gélatine, la caséine, souvent remplacée par du lait écrémé par souci d'économie, ou l'albumine à des concentrations variables [14, 18]. L'addition dans le milieu réactionnel d'un agent de surface, comme le Tween<sup>®</sup> 20 [17, 18] permet d'inhiber l'adsorption déjà adsorbées. En saturant ainsi les sites libres à la surface des tubes, à l'aide d'albumine à une concentration de 6 % considérée habituellement comme suffisante pour bloquer

les sites d'adsorption [16], nous avons obtenu les résultats de thyroglobuline attendus et comparables à ceux dans le PBS-albumine. Nous en concluons donc que l'ensemble de nos observations sont pleinement compatibles avec des phénomènes d'adsorption non spécifiques.

Il a été démontré, par ailleurs, que la présence dans une solution d'autres protéines dites « compétitives » pouvait, en fonction de leur concentration [13], affecter l'adsorption de protéines d'intérêt sur des surfaces inertes. En pratique, il existe, lors des cytoponctions ganglionnaires, une contamination par des protéines plasmatiques qui peut atteindre, selon une étude rapportée dans la littérature au maximum 5 % soit 2 mg d'albumine par cytoponction pour une albumine plasmatique de 40 g/L [12]. Nous avons souhaité nous rapprocher des situations de routine en évaluant l'influence de cette contamination protéique sur l'adsorption de la thyroglobuline. Cette évaluation a été réalisée à l'aide de 3 échantillons préparés avec du sérum physiologique contenant des quantités croissantes d'albumine jusqu'à 2 g/L. Nos résultats révèlent qu'avec 2 g/L d'albumine, dans les conditions testées (conservation dans des tubes standards, 3 heures à température ambiante et 48 heures à une température inférieure à  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), le pourcentage de récupération se situe entre 98 et 102 %. Cette concentration d'albumine semble donc efficace pour réduire l'adsorption de la thyroglobuline, au moins pour des conservations de courte durée. À des concentrations d'albumine inférieures, qui peuvent être retrouvées dans les liquides de

rinçage [12], il existe une relation linéaire entre le pourcentage de récupération et la concentration d'albumine. Ces faibles quantités d'albumine ne sont donc pas efficaces pour bloquer totalement l'adsorption de la thyroglobuline sur le tube.

## Conclusion

Nous avons montré que la faible concentration en protéines d'un liquide de rinçage de ponction à l'aiguille fine de ganglion, constitue la principale source préanalytique d'incertitude de mesure et peut conduire potentiellement à une interprétation erronée des résultats au vu des seuils de décision recommandés [6]. Dans un tampon protéiné comme le tampon utilisé dans les réactifs de dosage ou un équivalent comme le PBS-albumine, les échantillons peuvent être conservés, dans des tubes standards, à température ambiante ou à  $5 \pm 3$  °C, pendant 24 heures, et jusqu'à 12 mois à une température inférieure à -18 °C, sans que les résultats n'en soient affectés. Si l'on utilise du sérum physiologique, la chute des valeurs de thyroglobuline au cours du temps, dans le liquide de rinçage, va dépendre essentiellement de deux paramètres, inconnus *a priori*, qui sont d'une part, la quantité de thyroglobuline présente dans l'échantillon et, d'autre part, la contamination de cet échantillon par des protéines plasmatiques. Les objectifs de cette étude étant restreints au périmètre préanalytique, nous n'avons pas évalué l'effet de matrice [19] dans le sérum physiologique, qui varie probablement selon les méthodes de dosage de la thyroglobuline utilisées et contribue peut-être à augmenter l'erreur sur la mesure. Au vu de cette étude, nous confirmons des recommandations déjà publiées [10] concernant l'utilisation d'un tampon de dosage adapté, contenant de l'albumine ou tout autre agent bloquant l'adsorption, fourni par le laboratoire, de préférence au sérum physiologique.

**Liens d'intérêts :** Les auteurs déclarent ne pas avoir de lien d'intérêt en rapport avec cet article.

## Références

1. Borson-Chazot F, Bardet S, Bournaud C, Conte-Devolx CB, Corone C, D'Herbomez M, *et al.* Guidelines for the management of differentiated thyroid carcinomas of vesicular origin. *Ann Endocrinol* 2008 ; 69 : 472-86.
2. Cooper DS, Doherty GM, Haugen BR, Kloos RT, Lee SL, Mandel SJ, *et al.* Management guidelines for patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer. *Thyroid* 2006 ; 69 : 109-42.
3. Cooper DS, Doherty GM, Haugen BR, Kloos RT, Lee SL, Mandel SJ, *et al.* Revised American Thyroid Association management guidelines for patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer. *Thyroid* 2009 ; 19 : 1167-214.
4. Pacini F, Schlumberger M, Dralle H, Elisei R, Smit JW, Wiersinga W, *et al.* European consensus for the management of patients with differentiated thyroid carcinoma of the follicular epithelium. *Eur J Endocrinol* 2006 ; 154 : 787-803.
5. Leenhardt L, Borson-Chazot F, Calzada M, Carnaille B, Charrié A, Cochand-Priollet B, *et al.* Guide de bonnes pratiques pour l'usage de l'échographie cervicale et des techniques écho-guidées dans la prise en charge des cancers thyroïdiens différenciés de souche vésiculaire. *Ann Endocrinol* 2011 ; 72 : 1-26.
6. Leenhardt L, Borson-Chazot F, Calzada M, Carnaille B, Charrié A, Cochand-Priollet B, *et al.* Good practice guide for cervical ultrasound scan and echo-guided techniques in treating differentiated thyroid cancer of vesicular origin. *Ann Endocrinol* 2011 ; 72 : 173-97.
7. Leenhardt L, Erdogan MF, Egedus L, Mandel SJ, Paschke R, Rago T, *et al.* 2013 European Thyroid Association guidelines for cervical ultrasound scan and ultrasound-guided techniques in the postoperative management of patients with thyroid cancer. *Eur Thyroid J* 2013 ; 2 : 147-59.
8. Haugen BR, Alexander EK, Bible KC, Doherty GM, Mandel SJ, Nikiforov YE, *et al.* 2015 American Thyroid Association management guidelines for adult patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer. *Thyroid* 2016 ; 26 : 1-134.
9. D'Herbomez M, Lion G, Béron A, Wémeau JL, DoCao C. Avancées dans les dosages de thyroglobuline et leur impact dans la prise en charge des cancers différenciés de la thyroïde. *Ann Biol Clin* 2016 ; 74 : 21-7.
10. Charrié A. Dosage de thyroglobuline dans le liquide de rinçage de l'aiguille de ponction. *Med Nucleaire* 2012 ; 36 : 17-9.
11. Grani G, Fumarola A. Thyroglobulin in lymph node fine-needle aspiration washout : a systematic review and meta-analysis of diagnostic accuracy. *J Clin Endocrinol Metab* 2014 ; 99 : 1970-82.
12. Borel AL, Boizel R, Faure P, Barbe G, Boutonnat J, Sturm N, *et al.* Significance of low levels of thyroglobulin in fine needle aspirates from cervical lymph nodes of patients with a history of differentiated thyroid cancer. *Eur J Endocrinol* 2008 ; 158 : 691-8.
13. Cantarero LA, Butler JE, Osborne JW. The adsorptive characteristics of proteins for polystyrene and their significance in solid-phase immunoassays. *Anal Biochem* 1980 ; 105 : 375-82.
14. Livesey JH, Donald RA. Prevention of adsorption losses during radioimmunoassay of polypeptide hormones : effectiveness of albumins, gelatin, caseins, tween 20 and plasma. *Clin Chim Acta* 1982 ; 123 : 193-8.
15. Kovalchuk SI, Anikanov NA, Ivanova OM, Ziganshin RH, Govorun VM. Bovine serum albumin as a universal suppressor of non-specific peptide binding in vials prior to nano-chromatography coupled mass-spectrometry analysis. *Anal Chim Acta* 2015 ; 893 : 57-64.
16. Jeyachandran YL, Mielczarski JA, Mielczarski E, Rai B. Efficiency of blocking of non-specific interaction of different proteins by BSA adsorbed on hydrophobic and hydrophilic surfaces. *J Colloid Interface Sci* 2010 ; 341 : 136-42.
17. Schönheyder H, Andersen P. Effects of bovine serum albumin on antibody determination by the enzyme-linked immunosorbent assay. *J Immunol Methods* 1984 ; 72 : 251-9.
18. Kenna JG, Major GN, Williams RS. Methods for reducing non-specific antibody binding in enzyme-linked immunosorbent assays. *J Immunol Methods* 1985 ; 85 : 409-19.
19. Valat C, Sapin R. Problèmes et pièges en immunoanalyse. In : Massart C, ed. *Immunoanalyse de la théorie aux critères de choix en biologie clinique*. Paris : EDP sciences, 2009 : 115-58.