

Annales du contrôle national de qualité des analyses de biologie médicale

hGH – PTH – 25 OH Vitamine D 12GPV1 décembre 2012

**Hormone de croissance (hGH)
Parathormone (PTH)
25 OH Vitamine D**

Octobre 2013

Michèle NOEL (ANSM¹)
Jean-Claude SOUBERBIELLE (Hôpital Necker, Paris)

¹ : L'ANSM se substitue à l'Afssaps depuis le 1^{er} mai 2012.

Opération	12GPV1
Expédition	12/12/2012
Clôture	07/01/2012
Edition des comptes-rendus individuels	29/04/2013
Paramètres contrôlés	hGH, PTH, 25 OH Vitamine D
Echantillons envoyés	GH202, GH203, PTH121, PTH122, VITD121
Nombre de laboratoires concernés*	847
Nombre de laboratoires participants**	811

* Laboratoires ayant déclaré à l'ANSM pratiquer les analyses concernées par l'envoi

**Laboratoires ayant retourné un bordereau-réponse correctement identifié par le code laboratoire, avant la date de clôture de l'opération.

Résumé de l'opération

En 2012, une opération de contrôle de qualité portant sur le dosage de l'hormone de croissance (hGH), de la parathormone (PTH) et de la 25 OH vitamine D a été réalisée. Les laboratoires concernés ont largement participé (participation de 95,7%).

Lors de cette opération, réalisée en décembre 2012, les échantillons envoyés pour contrôler l'hGH (GH202 et GH203) étaient issus d'un pool lyophilisé de sérums natifs. Les échantillons envoyés pour contrôler la PTH (PTH121 et PTH122) étaient issus d'un pool lyophilisé de plasmas natifs non surchargés. L'échantillon permettant de doser la 25 OH vitamine D était constitué d'un pool sérique surchargé en 25 OH vitamine D3.

Concernant l'hGH, en 2012, toutes les trousse de réactifs utilisées pour doser l'hGH sont désormais étalonnées contre le Standard International SI 98/574, préparation d'hGH recombinante (isoforme 22 kDa). Malgré l'apparition de nouvelles trousse de dosage, les résultats obtenus en 2012 ont confirmé, pour deux échantillons de concentration voisine de 10 mUI/l et de 20 mUI/l, une atténuation des discordances inter-techniques. Enfin, tous les laboratoires, sauf un, connaissent le standard international utilisé pour la calibration de leur trousse et les biologistes suivent largement les recommandations de la SFBC (1).

Concernant la PTH, la dispersion inter-laboratoires inter-techniques est importante, expliquée par l'existence de réactions croisées avec les fragments « non 1-84 » et le manque d'homogénéité des calibrateurs utilisés. Après expression des résultats en multiple de la limite supérieure des valeurs usuelles (selon les recommandations KDIGO 2009), l'écart inter-techniques est légèrement atténué.

Concernant la 25 OH vitamine D, la dispersion inter-laboratoires inter-techniques des résultats obtenus sur un échantillon présentant une concentration inférieure à la limite inférieure des valeurs souhaitables est importante. De plus, la dispersion inter-laboratoires intra-technique est améliorable.

hGH

Echantillons GH202 – GH203

Méthode statistique et expression des résultats

Le traitement statistique des données comporte plusieurs étapes :

- Calcul de la valeur cible : vu le nombre faible de résultats, c'est la médiane (Med), toutes techniques confondues ainsi que la médiane pour la trousse utilisée. Le rapport (R) entre la médiane obtenue pour chaque trousse et la médiane obtenue toutes techniques confondues est calculé.
- Calcul des paramètres estimant la dispersion : coefficient de variation tronqué (CVtr) et espace interquartile. Le CVtr (écart-type / moyenne exprimé en %) est calculé après une troncature à 2 écarts-types, c'est à dire après élimination des valeurs extrêmes en dehors de la moyenne ± 2 écarts-types. L'espace interquartile représente l'intervalle centré sur la médiane qui comprend 50% de l'ensemble des données. Ces paramètres ne sont calculés que si l'effectif est suffisant ($n \geq 3$).
- Calcul du CV intra-réactif médian : cette valeur sépare les réactifs en 2 groupes d'effectifs égaux : la moitié des réactifs présente un CVtr intra-réactif inférieur ou égal au CV médian.
- La comparaison des résultats entre eux est effectuée par des tests non paramétriques adaptés (test de Kruskal Wallis, test de Wilcoxon). Les résultats sont significativement différents si $p < 0,05$.
- Des limites acceptables (LA) sont utilisées pour apprécier les résultats obtenus par chaque laboratoire. Ces limites tiennent compte des performances analytiques des systèmes de dosage présents sur le marché mais également des exigences cliniques. Les LA sont exprimées en % et permettent de délimiter de part et d'autre de la cible (médiane obtenue avec la même trousse) un intervalle à l'intérieur duquel un résultat est considéré comme « acceptable ». La limite acceptable utilisée lors de l'opération 12GPV1 est de 15%.

Définition des échantillons

Deux échantillons lyophilisés ont été envoyés lors de l'opération 12 GPV1. Ils ont été fabriqués à partir d'un même pool sérique natif séparé en 2 parties. L'échantillon GH 202 est constitué du pool de sérum natif et l'échantillon GH 203 du pool de sérum natif surchargé avec un ajout théorique d'environ 10 mUI/l du standard SI 98/574.

Avant l'envoi, l'expert J.C. Souberbielle a vérifié sur 5 flacons, la concentration en hGH, ainsi que la stabilité à 4°C après reconstitution (tableau I). Les résultats ne sont pas statistiquement différents (test de Wilcoxon).

En 2012, la concentration des échantillons se situait à des valeurs proches des seuils définissant le déficit en hGH de l'enfant et de l'adulte (20 mUI/l et 10 mUI/l).

tableau I : résultats de l'étude de stabilité (dosages effectués par l'expert avec la trousse Access BECKMAN [QE]).

	GH202		GH203	
	résultat à T0	résultat à T48 heures	résultat à T0	résultat à T48 heures
Médiane (mUI/l)	9,7	9,8	18,7	19,2

Réactifs utilisés

La répartition des trousses de réactifs utilisées lors de l'opération 12GPV1 est donnée dans le tableau II. La figure 1 illustre la répartition des trousses de dosage utilisées. Les 11 trousses utilisées sont toutes des techniques immunométriques à deux sites (méthode « sandwich ») qui utilisent :

- un traceur radioactif pour quatre d'entre elles : Irma BRAHMS [AM] ; Irma DIASORIN [B9] ; RIACT IBA CISbio [BN] ; Irma BECKMAN, [BO],
- un traceur non isotopique pour les sept autres : AIA TOSOH [DL] ; Delfia PERKIN ELMER [KC] ; Access BECKMAN [QE] ; Elecsys ROCHE [RD] ; Immulite SIEMENS [SA] ; Isys IDS [SC] ; Liaison DIASORIN [S8]. Ces dernières sont automatisées.

Au total, 14,7% des laboratoires ayant dosé l'hGH lors de l'opération 12GPV1 utilisent une technique avec traceur radioactif, confirmant la diminution progressive du nombre d'utilisateurs des techniques isotopiques amorcée depuis 2000 (30,7% en 2008, 20% en 2010 et en 2011). Six trousses dont 3 utilisant une technique avec marqueurs radioactifs sont très peu utilisées (moins de 4 utilisateurs).

En 2012, toutes les trousse de réactif sont standardisées sur le Standard International : SI 98/574, une préparation d'hGH recombinante (isoforme 22 kDa).

figure 1 : répartition des trousse de dosage utilisées pour doser l'hGH lors de l'opération 12GPV1.

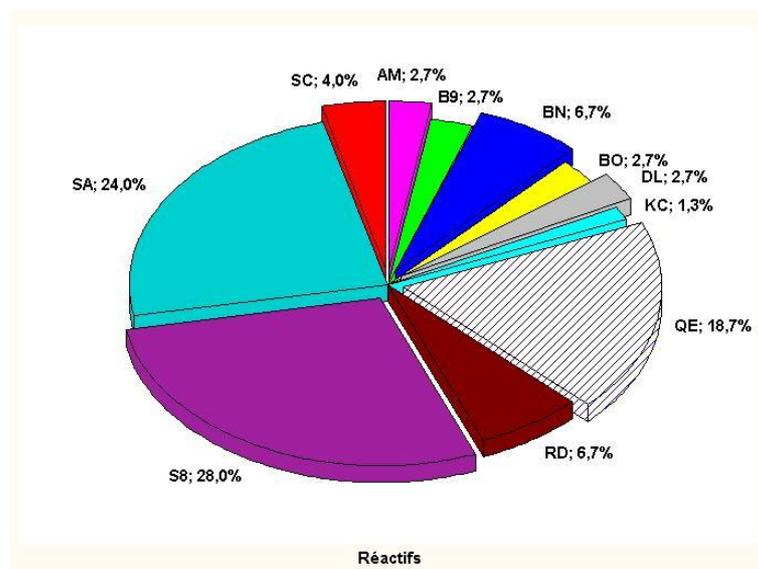


tableau II : réactifs utilisés pour doser l'hGH lors de l'opération 12GPV1.

Code	technique	trousse, distributeurs	Nombre d'utilisateurs
			12GPV1
AM	isotopique	IRMA, BRAHMS	2
B9		CTK-IRMA, DIASORIN	2
BN		RIACT, IBA CISbio	5
BO		IRMA GH, BECKMAN	2
DL	non isotopique	AIA Pack / STAT AIA Pack, TOSOH	2
KC		DELFLIA/ AutoDELFLIA, PERKIN ELMER	1
QE		Access, BECKMAN	14
RD		Elecsys, ROCHE	5
S8		Liaison, DIASORIN	21
SA		Immulate, SIEMENS	18
SC		Isys, IDS	3

Résultats des participants

Le nombre de laboratoires ayant rendu des résultats est stable, sans modification majeure depuis 2009. Le dosage de cet analyte a été réalisé par 8,9% des participants.

Les principaux résultats statistiques concernant l'opération 12GPV1 sont donnés dans le tableau III et sur la figure 2.

Pour l'échantillon GH202 de concentration proche de 10 mUI/l (la médiane toutes techniques est de 11,8 mUI/l) la dispersion inter-laboratoires inter-réactifs est en légère amélioration par rapport aux résultats obtenus en 2007 (2007 : 16,2% versus 2012 : 15,3%).

Les résultats diffèrent significativement selon la trousse utilisée (test de Kruskal Wallis, $p < 0,0001$). Pour les trousse avec plus de 2 utilisateurs, la trousse Access BECKMAN [QE] donne des résultats statistiquement plus bas que ceux obtenus par les trousse Liaison DIASORIN [S8], Immulate SIEMENS [SA] et Cobas ROCHE [RD].

L'écart entre la médiane de la trousse donnant les résultats les plus hauts Cobas ROCHE [RD] et celle donnant les résultats les plus bas Access BECKMAN [QE] est de 43% (expression en % par rapport à la médiane toutes techniques), en diminution en regard du résultat obtenu en 2007 (53%).

Les trousseuses utilisées présentent une précision correcte avec des CV inter-laboratoires intra-réactif inférieurs à 10%. La valeur médiane des CV inter-laboratoires intra-réactif est de 5,6%, en amélioration par rapport au résultat de 2007 (6,8%).

Par rapport aux résultats obtenus en 2011, pour l'échantillon GH203 de concentration proche de 20 mUI/l (la médiane toutes techniques est de 20,9 mUI/l), la dispersion inter-laboratoires inter-réactifs est en légère amélioration (2011 : 11,6% versus 2012 : 10,1%).

Les résultats diffèrent significativement selon la trousse utilisée (test de Kruskal Wallis, $p < 0,0001$). Pour les trousseuses avec plus de 2 utilisateurs, la trousse Access BECKMAN [QE] donne des résultats statistiquement plus bas que ceux obtenus par les trousseuses Liaison DIASORIN [S8], Immulite SIEMENS [SA], Cobas ROCHE [RD] et Riact Cisbio [BN].

L'écart entre la médiane de la trousse donnant les résultats les plus hauts hGH-RIACT CIS bio [BN] et celle donnant les résultats les plus bas (Access BECKMAN [QE]) est de 20% (expression en % par rapport à la médiane toutes techniques), en amélioration par rapport au résultat obtenu en 2011 (38%).

Les trousseuses utilisées présentent une précision correcte avec des CV inter-laboratoires intra-réactif inférieurs à 10%. La valeur médiane des CV inter-laboratoires intra-réactif est de 6,2%, proche du résultat de 2011 (4,7%).

Les échantillons GH202 et GH203 ont été obtenus à partir d'un même pool sérique : GH 202 est constitué de sérum natif et GH203 a été surchargé avec un ajout théorique d'environ 10 mUI/l de SI 98/574. La différence entre les résultats obtenus pour GH 202 et GH203 nous permet d'apprécier le pourcentage de récupération du standard SI 98/574 (tableau IV et figure 3). La comparaison des résultats obtenus pour les trousseuses ayant plus de 2 utilisateurs montre que la trousse Roche sous estime l'ajout (Anova Kruskal-Wallis puis comparaison multiple des rangs, $p < 0,001$). Des données complémentaires de raccordement métrologique ont été demandées à ROCHE. La société ROCHE a confirmé que leur méthode était raccordée au standard international 98/574. En fonction des résultats du prochain contrôle de qualité des actions complémentaires pourront être demandées par l'ANSM.

tableau III : résultats d'hGH obtenus lors de l'opération 12GPV1 (résultats exprimés en mUI/l)
Pour la trousse Perkin Elmer Autodelfia [KC] 1 seul résultat exclu des statistiques car aberrant

Code	Distributeur	Réactif	N	Ntr	Med	R (%)	Interquartile	Min	Max	Mtr	CVtr
					(mUI/l)		(mUI/l)	(mUI/l)	(mUI/l)	(mUI/l)	(%)
GH202											
AM	BIO SOURCE	hGH IRMA	2	2	7,9	67	NC	6,6	9,2	7,9	NC
B9	DIASORIN	HGH-CTK IRMA	2	2	15,1	128	NC	14,9	15,4	15,1	NC
BN	CIS BIO	hGH-RIACT	5	5	11,8	100	11,5 - 12,4	9,9	12,9	11,7	9,80
BO	BECKMAN COULTER	IRMA GH (Immunotech)	2	2	9,8	83	NC	9,1	10,5	9,8	NC
DL	TO SOH BIOS CIENCE	AIA Pack hGH / Stat AIA Pack	2	2	13,7	116	NC	13,4	14,0	13,7	NC
QE	BECKMAN COULTER	Access Ultrasensitive hGH	14	14	9,4	80	9,1 - 9,8	8,9	10,3	9,5	4,30
RD	ROCHE	hGH Cobas	5	5	14,4	123	14,4 - 14,5	13,8	14,7	14,4	2,30
S8	DIASORIN	Liaison hGH	21	20	11,6	99	10,8 - 12,1	9,9	14,1	11,5	7,10
SA	SIEMENS	Immulite 2000 / Immulite 2500	18	17	13,0	111	12,6 - 13,8	6,8	14,7	13,2	5,60
SC	IDS-ISYS	hGH Isys	3	3	10,0	85	NC	10,0	12,5	10,8	NC
GH203											
AM	BIO SOURCE	hGH IRMA	2	2	15,6	75	NC	14,5	16,7	15,6	NC
B9	DIASORIN	HGH-CTK IRMA	2	2	26,5	127	NC	25,6	27,4	26,5	NC
BN	CIS BIO	hGH-RIACT	5	5	22,8	109	21,6 - 23,0	20,7	23,0	22,2	4,60
BO	BECKMAN COULTER	IRMA GH (Immunotech)	2	2	19,0	91	NC	16,3	21,6	19,0	NC
DL	TO SOH BIOS CIENCE	AIA Pack hGH / Stat AIA Pack	2	2	22,4	107	NC	21,9	22,9	22,4	NC
QE	BECKMAN COULTER	Access Ultrasensitive hGH	14	14	18,6	89	17,0 - 19,2	9,9	19,5	18,2	6,20
RD	ROCHE	hGH Cobas	5	5	21,3	102	21,3 - 21,6	20,9	21,9	21,4	1,70
S8	DIASORIN	Liaison hGH	21	20	20,2	97	19,5 - 22,1	17,9	24,4	20,5	6,80
SA	SIEMENS	Immulite 2000 / Immulite 2500	18	18	22,3	107	21,3 - 22,9	19,5	25,1	22,2	6,70
SC	IDS-ISYS	hGH Isys	3	3	20,3	97	NC	17,6	21,3	19,7	NC

N : nombre de valeurs traitées

Ntr : nombre de valeurs restant après élimination de celles situées au-delà de 2 écarts-types de part et d'autre de la moyenne

Med : médiane

R : rapport entre la médiane par trousse et la médiane toutes techniques confondues

Interquartile : intervalle centré sur la médiane comprenant 50% de l'ensemble des données.

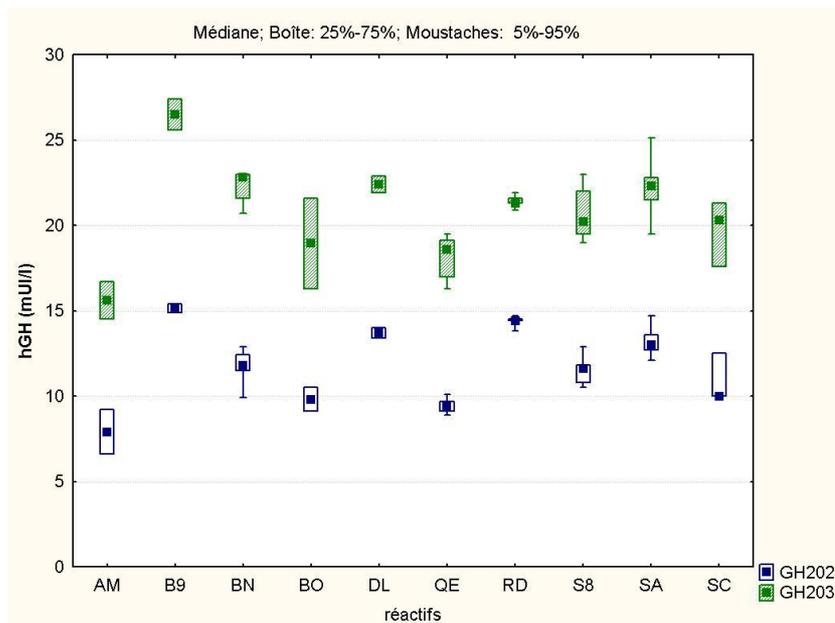
Min : minimum

Max : maximum

Mtr : moyenne arithmétique calculée à partir de Ntr

CVtr : coefficient de variation calculé à partir de l'effectif tronqué (voir paragraphe méthode statistique).

figure 2 : diagramme « boîte et moustaches » des résultats obtenus lors de l'opération 12GPV1 pour l'hGH avec les réactifs les plus utilisés (n ≥ 2). Les boîtes représentent l'espace inter-quartile (percentile 75 – percentile 25) ainsi que la position de la médiane (point), les « moustaches » positionnent les percentiles 5 et 95.



Code	Trousses, distributeurs
AM	hGH IRMA, BIOSOURCE
B9	hGH-CTK IRMA, DIASORIN
BN	hGH-RIACT, CIS BIO
BO	GH IRMA, BECKMAN COULTER
DL	AIA Pack, TOSOH BIOSCIENCE
QE	Access hGH, BECKMAN COULTER
RD	hGH Cobas, ROCHE
S8	Liaison hGH, DIASORIN
SA	Immulite, SIEMENS
SC	Isys hGH, IDS-ISYS

figure 3 : Résultats individuels obtenus lors de l'opération 12GPV1 pour l'ajout de SI 98/574 avec les réactifs les plus utilisés (n ≥ 2). Les rectangles représentent la dispersion intra-réactif, les triangles représentent les résultats individuels.

Pour la trousses Perkin Emer Autodelfia [KC] 1 seul résultat exclu des statistiques car aberrant

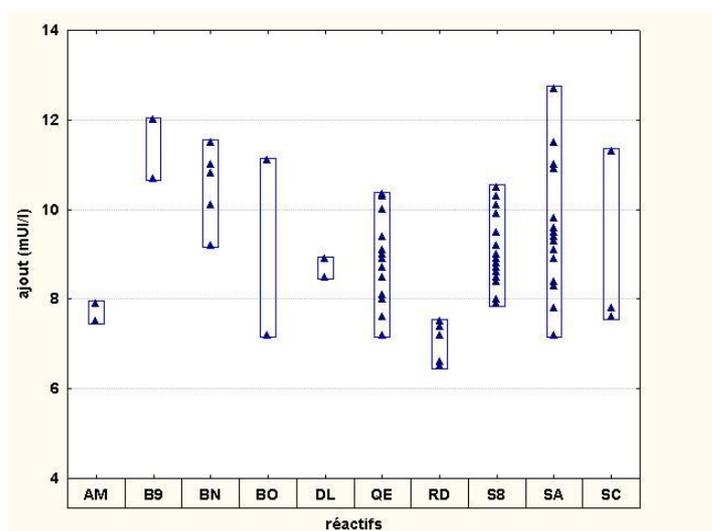


tableau IV : médiane des ajouts en fonction de la trousse utilisées (résultats exprimés en mUI/l).

Code	Trousses, distributeurs	médiane
Ttes techniques		8,90
AM	hGH IRMA, BIOSOURCE	7,70
B9	hGH-CTK IRMA, DIASORIN	11,35
BN	hGH-RIACT, CIS BIO	10,80
BO	GH IRMA, BECKMAN COULTER	9,15
DL	AIA Pack, TOSOH BIOSCIENCE	8,70
QE	Access hGH, BECKMAN COULTER	8,80
RD	hGH Cobas, ROCHE	7,20
S8	Liaison hGH, DIASORIN	8,90
SA	Immulite, SIEMENS	9,20
SC	Isys hGH, IDS-ISYS	7,80

Evolution des « connaissances » en 2012.

Lors des opérations du Contrôle national de qualité effectuées depuis 2005, les biologistes doivent préciser : le standard international, l'unité et le facteur de conversion utilisés habituellement pour le rendu des résultats.

L'analyse des réponses montre que tous les résultats sauf un sont exprimés par rapport au standard international utilisé pour étalonner leur trousse de dosage (12GPV1 : 98,7%). De plus, les laboratoires suivent majoritairement les recommandations SFBC (1) avec 55 laboratoires soit 72,4% exprimant strictement leurs résultats en mUI/l du SI 98/574. Pour 8 laboratoires soit 11,1%, le rendu des résultats se fait en mUI/l et en ng/ml du SI 98/574. Enfin, tous les laboratoires rendant uniquement leurs résultats en ng/ml sauf 2 (absence de réponse) utilisent tous un facteur de conversion correct.

Rappelons que le standard international SI 98/574, constitué d'hGH recombinante (isoforme 22 kDa), a une activité biologique de 3 μ UI/ng (2). Pour toutes les trousse étalonnées contre le SI 98/574, seul le facteur de conversion indiqué par l'OMS, c'est à dire 3, doit être utilisé pour passer des ng aux μ UI.

Commentaire

Fin 2011, les 11 trousse de dosage utilisées en France sont calibrées contre le SI 98/574.

Le standard international utilisé pour la calibration de la trousse utilisée est connu de 98,7% des laboratoires (70 / 71 utilisateurs).

En termes de rendu de résultats, 16,5% des laboratoires rendent leurs résultats uniquement en « ng/ml ». Rappelons que la recommandation émise par la SFBC de rendre les résultats en « mUI/l » est toujours d'actualité (1). De même, le seuil définissant le déficit en GH de l'enfant est toujours de 20 mUI/l (arrêté du 24 janvier 1997). Il faut toutefois noter que le récent consensus international sur le dosage d'hGH et d'IGF-I recommande un rendu des valeurs d'hGH en ng/ml à condition que les trousse soient toutes calibrées contre le standard SI 98/574 (3). Dans le cadre du déficit en hormone de croissance chez l'enfant, un rendu des résultats en ng/ml nécessiterait de redéfinir les seuils diagnostiques et thérapeutiques, l'ancien seuil de « 10 ng/ml » n'étant plus adapté.

Lors de l'opération 2012, un échantillon de concentration voisine de 20 mUI/l était contrôlé. La comparaison des résultats avec ceux obtenus en 2011, 2010 et 2009 avec un échantillon de concentration comparable suggère une amélioration de la dispersion des résultats inter-réactifs et une relative stabilité de la précision des trousse (figure 4). Ainsi, le CV inter-réactif qui était de 11,8 % en 2009 est de 10,1% en 2012.

On peut toutefois noter (tableau V) que, si dans le cadre d'une recherche de déficit en hormone de croissance (DGH) chez un enfant, les résultats obtenus pour un échantillon de concentration similaire à celui de l'échantillon testé (GH203) avaient été utilisés pour prendre une décision thérapeutique, les valeurs rendues par 31 laboratoires auraient été inférieures à la cible thérapeutique (<20 mUI/l) et celles de 44 laboratoires supérieures à la cible (\geq 20 mUI/l). Ceci doit inciter les biologistes à informer les cliniciens des problèmes liés à l'incertitude de mesure des mesures d'hGH.

figure 4 : Evolution de la dispersion des résultats inter et intra-réactifs entre 2009 et 2012 pour des échantillons de concentration voisine de 20 mUI/l d'hGH.

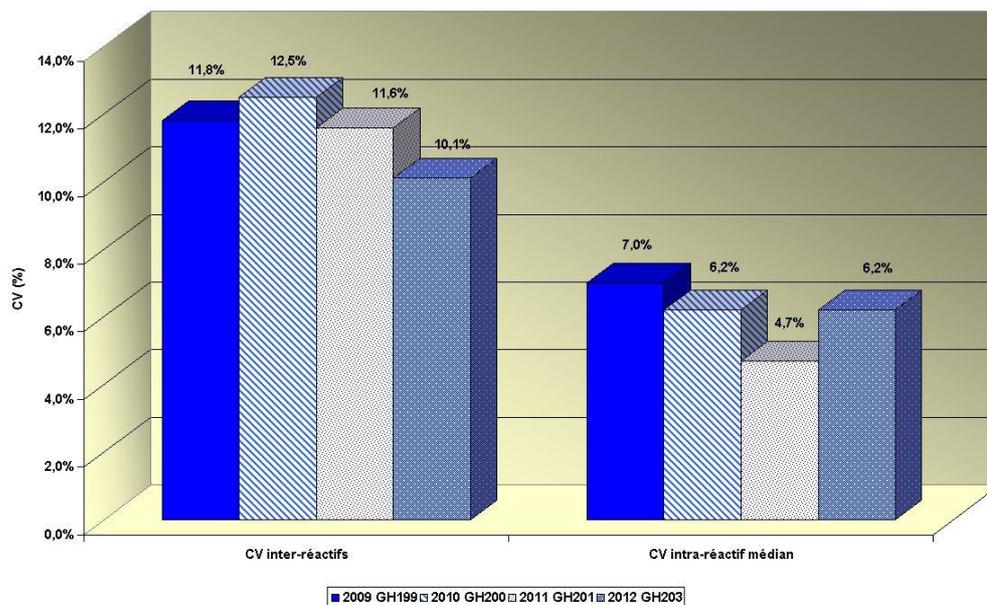


tableau V : Nombre de résultats inférieurs ou supérieurs au seuil définissant le déficit en GH de l'enfant (20 mUI/l) des différentes trouses de dosages pour l'échantillon GH203.

	AM	B9	BN	BO	DL	KC	QE	RD	S8	SA	SC	Toutes techniques
hGH <20 mUI/l	2	0	0	1	0	1	14	0	9	2	2	31
hGH ≥20 mUI/l	0	2	5	1	2	0	0	5	12	16	1	44

Bibliographie

1. BAYLE M et al (Groupe de travail SFBC de la section « Evaluation des dosages des paramètres de l'axe somatotrope »). Recommandations pour l'harmonisation des techniques de dosage sérique d'hormone de croissance. Ann. Biol. Clin., 2004, 62, 155–163.
2. BRISTOW AF International standards for growth hormone. Horm Res 1999, 51(suppl 1), 7-12.
3. CLEMMONS D Consensus statement on the standardization and evaluation of growth hormone and insulin-like growth factor assays. Clinical Chemistry, 2011, 57, 555-559.

PTH

Echantillon PTH121 – PTH122

Méthode statistique et expression des résultats

L'analyse statistique comporte les étapes suivantes :

- Exclusion des valeurs aberrantes très éloignées des autres résultats correspondant à des erreurs grossières.
 - Calcul de la valeur cible (moyenne tronquée, Mtr) sur l'ensemble des résultats et pour chaque réactif : la moyenne est obtenue après une double troncature à 2 écarts-types, c'est à dire après deux éliminations successives des valeurs en dehors de la moyenne ± 2 écarts-types. Cette double troncature a pour but de stabiliser la valeur cible en éliminant les valeurs extrêmes. Lorsqu'un même réactif peut être utilisé sur plusieurs automates, une comparaison statistique des résultats des couples « réactif/automate » est effectuée. Les résultats sont regroupés si aucune différence n'est notée.
 - Calcul du coefficient de variation inter-laboratoires obtenu après cette double troncature (CVtr) sur l'ensemble des résultats et pour chaque réactif : il est exprimé en % et calculé en divisant l'écart-type par la moyenne. Il estime la dispersion des résultats.
 - Ces calculs sont réalisés lorsque l'effectif avant troncature est suffisant ($n \geq 6$).
 - Calcul du CV intra-réactif médian : il correspond à la valeur médiane des CVtr inter-laboratoires intra-réactif, cette valeur sépare les réactifs en 2 groupes d'effectifs égaux. La moitié des réactifs présente un CVtr intra-réactif inférieur ou égal au CV médian.
 - Des limites acceptables (LA) sont utilisées pour apprécier les résultats obtenus par chaque laboratoire. Ces limites tiennent compte des performances analytiques des systèmes de dosage présents sur le marché mais également des exigences cliniques. Les LA sont exprimées en % et permettent de délimiter de part et d'autre de la cible (moyenne tronquée obtenue avec la même trousse) un intervalle à l'intérieur duquel un résultat est considéré comme « acceptable ». Une LA de 15% a été utilisée lors de l'opération 12GPV1.

Définition de l'échantillon

Deux échantillons lyophilisés ont été envoyés lors de l'opération 12GPV1. Ils ont été fabriqués à partir de pools constitués, contrairement aux spécifications demandées (sérums), d'un mélange de plasmas et de sérums natifs non surchargés. Ces pools n'ont pas été défibrinés par le fabricant. A la reconstitution, de nombreux biologistes ($n=75$) ont signalé des problèmes de solubilisation des échantillons et la présence de coagulum blanc, liés à la présence dans les échantillons de caillots de fibrine. Il est à noter que les résultats obtenus en présence ou en absence de coagulum signalés sont strictement identiques. Concernant la comparaison des résultats inter-techniques, il faut se rappeler qu'avec certaines trouses de dosage les concentrations obtenues sur plasma EDTA peuvent être supérieures de 10 à 20% aux concentrations sériques.

Avant l'envoi, l'expert J.C. Souberbielle a vérifié sur 5 flacons, la concentration en PTH, ainsi que la stabilité à 4°C après reconstitution (tableau VI). Il était recommandé de doser l'échantillon dans les 4 heures suivant la reconstitution. Les résultats après 4 heures ne sont pas statistiquement différents (test de Wilcoxon). Une légère diminution (moins 5%) est observée après 24 heures.

La concentration de l'échantillon PTH121 se caractérisait par une valeur élevée largement supérieure aux valeurs usuelles, alors que celle de l'échantillon PTH122 se situait dans la zone des valeurs usuelles.

tableau VI : résultats de l'étude de stabilité (dosages effectués par l'expert avec la trousse Cobas ROCHE [RD]).

	PTH121		PTH122	
	résultat à T0	résultat à T4 heures	résultat à T0	résultat à T4 heures
Médiane (ng/l)	331,6	316,2	46,2	43,6

Réactifs utilisés

Au total 14 trousse sont utilisées, ce sont des immuno-dosages de type « sandwich » automatisés pour la plupart. Quatre trousse sont très peu utilisées : la trousse Elsa PTH Irma CISBIO [BN], 4 utilisateurs ; la trousse Total-intact-PTH CISBIO [AA], 1 utilisateur ; la trousse PTH Elisa INGEN [NI], 1 utilisateur et la trousse Vitros PTH ORTHO [P5], 1 utilisateur.

La répartition des trousse de réactif les plus utilisées ($n \geq 6$) lors de l'opération 12GPV1 est donnée dans le tableau VII et sur la figure 5.

Les 10 trousse les plus utilisées sont toutes, sauf deux, ([R8] LIAISON 1-84 PTH, DIASORIN et [ED] Cobas PTH bio-intacte ROCHE), des dosages dits de seconde génération.

figure 5 : répartition des trousse de dosage les plus utilisées ($n \geq 5$) pour doser la PTH lors de l'opération 12GPV1.

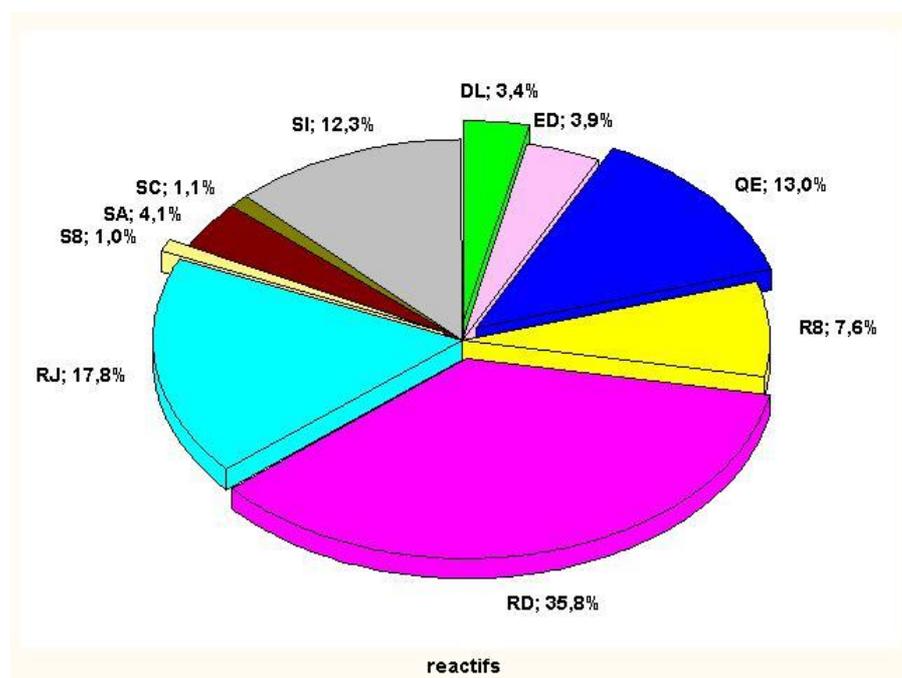


tableau VII: réactifs les plus utilisés ($n \geq 6$) pour doser la PTH lors de l'opération 12GPV1.

Code	trousse, distributeurs	Nombre d'utilisateurs
		12GPV1
DL	STAT-AIA PACK intact PTH, TOSOH	21
ED	Cobas PTH bio-intacte, ROCHE	24
QE	Access Intact PTH, BECKMAN	78
R8	LIAISON 1-84 PTH, DIASORIN	44
RD	Cobas PTH, ROCHE	219
RJ	ARCHITECT Intact PTH, ABBOTT	105
S8	LIAISON N-Tact PTH, DIASORIN	5
SA	IMMULITE PTH intacte, SIEMENS	25
SC	PTH Intacte ISYS, IDS	6
SI	ADVIA Centaur PTH intacte, SIEMENS	69

Résultats des participants

Le dosage de la PTH a été réalisé par 72,8% des participants. Les principaux résultats statistiques concernant l'opération 12GPV1 sont donnés dans le tableau VIII et sur les figures 6, 7, 8 et 9.

La distribution des résultats est d'allure plurimodale. La dispersion inter-laboratoires globale est importante (PTH121, CVTr = 23,5% et PTH122, CVTr = 19,9%). L'écart entre la moyenne de la trousse donnant les résultats les plus élevés ([SA], Immulite SIEMENS) et celle donnant les résultats les plus bass ([R8] Liaison 1-84 PTH DIASORIN) est important (respectivement 92% et 94% pour PTH121 et PTH122, expression en % par rapport à la moyenne toutes techniques). De plus, les résultats diffèrent significativement selon la trousse utilisée (test de Kruskal Wallis, $p < 0,0001$). Pour les trousse avec plus de 5 utilisateurs, les trousse [R.J], Architect ABBOTT et [SA] Immulite SIEMENS donnent des résultats statistiquement plus élevés que ceux obtenus par les autres trousse.

Les deux trousse dites de troisième génération [R8] Liaison 1-84 PTH DIASORIN et [ED] Cobas PTH bio-intacte ROCHE donnent des résultats statistiquement plus bas que ceux obtenus par les autres trousse.

Même après exclusion des résultats obtenus par les deux trousse de 3^e génération, l'écart inter-techniques des trousse de seconde génération demeure important (respectivement 74,2 et 64,5% pour PTH121 et PTH122).

Pour l'échantillon PTH121, 9 trousse sur 10 présentent une précision correcte avec des CV inter-laboratoires intra-réactif inférieurs à 10%. La valeur médiane des CV inter-laboratoires intra-réactif est de 7,4%. Pour l'échantillon PTH122, 8 des 10 trousse les plus utilisées présentent une précision correcte avec des CV inter-laboratoires intra-réactif inférieurs à 10%. La valeur médiane des CV inter-laboratoires intra-réactif est de 6,4%.

Les néphrologues recommandent de rendre les concentrations de PTH des patients dialysés non pas en valeur absolue mais en multiple des Limites Supérieures des valeurs usuelles de la trousse de dosage utilisée (4). Le tableau IX propose pour les trousse les plus utilisées : la limite supérieure (LS) des valeurs usuelles fournies dans les notices des fabricants et la valeur moyenne obtenue par chaque trousse exprimée en multiple de la LS. L'expression en multiple de la LS améliore légèrement l'écart inter-trousse. Ainsi, pour l'échantillon PTH121, après expression en multiple de la LS, la trousse [SA] Immulite PTH intacte SIEMENS donne des résultats 1,6 fois plus forts que la trousse donnant les résultats les plus bas [ED] Cobas PTH bio-intacte PTH ROCHE, alors que lorsque les résultats sont exprimés en ng/l, le facteur est de 2,6 fois. Des résultats du même ordre sont obtenus pour l'échantillon PTH122.

tableau VIII : résultats de la PTH lors de l'opération 12GPV1 (résultats exprimés en ng/l). En raison de la dispersion des résultats, la moyenne toutes techniques est donnée à titre indicatif.

code	distributeur	Réactif	Hbnt	Moytr	CVtr
PTH121					
		Toutes techniques	599	323,99	23,5
DL	TOSOH Biosciences	ST AIA-PACK intact PTH	21	322,15	6,0
ED	ROCHE Diag.	Cobas PTH bio-intacte	24	190,80	5,0
QE	BECKMAN COULTER	Access Intact PTH	77	299,96	8,0
R8	DIASORIN S.A.	Liaison 1-84 PTH	44	175,46	8,7
RD	ROCHE Diag.	Cobas PTH intact	219	309,92	6,7
RJ	ABBOTT Diag.	Architect Intact PTH	105	445,45	8,1
S8	DIASORIN S.A.	Liaison N-Tact II PTH	4	237,50	13,3
SA	SIEMENS MED.SOL. DIAGN.	PTH intacte Immulite	24	477,83	9,9
SI	SIEMENS MED. SOL. DIAGN.	Intact PTH ADVIA Centaur	69	381,05	6,8
SC	IDS	PTH intacte Isys	5	325,18	3,7
PTH122					
		Toutes techniques	604	44,47	19,9
DL	TOSOH Biosciences	ST AIA-PACK intact PTH	21	45,13	5,5
ED	ROCHE Diag.	Cobas PTH bio-intacte	24	33,64	6,6
QE	BECKMAN COULTER	Access Intact PTH	76	41,82	6,1
R8	DIASORIN S.A.	Liaison 1-84 PTH	46	25,70	7,8
RD	ROCHE Diag.	Cobas PTH intact	220	44,22	4,8
RJ	ABBOTT Diag.	Architect Intact PTH	108	64,91	8,1
S8	DIASORIN S.A.	Liaison N-Tact II PTH	6	39,05	12,4
SA	SIEMENS MED.SOL. DIAGN.	PTH intacte Immulite	24	67,73	5,1
SI	SIEMENS MED. SOL. DIAGN.	Intact PTH ADVIA Centaur	66	43,55	5,9
SC	IDS	PTH intacte Isys	6	46,02	13,9

Pour 1 laboratoire dosage effectué avec Total-intact- PTH CISBIO [AA], résultat : 201 ng/l (PTH121), 28 ng/l (PTH122).

Pour 4 laboratoires dosages effectués avec Elsa PTH CISBIO [BN], résultats : 203 – 202 – 162 - 197 ng/l (PTH121), 28 – 26 – 24 – 26 ng/l(PTH122).

Pour 1 laboratoire dosage effectué avec PTH Intact ELISA INGEN [NI] résultat : 387 ng/l (PTH121), 64 ng/l (PTH122).

Pour 1 laboratoire dosage effectué avec Vitros PTH ORTHO [P5] résultat : 339 ng/l (PTH121), 48 ng/l (PTH122).

Par souci d'homogénéité les résultats statistiques de l'échantillon PTH121 ont été donnés pour Liaison N-tact II PTH DIASORIN (4 utilisateurs) et Isys IDS (5 utilisateurs).

tableau IX : résultats de la PTH lors de l'opération 12GPV1 (résultats exprimés en multiple de la limite supérieure des valeurs usuelles indiquées dans les notices).

code	distributeur	réactif	Limite Supérieure (LS) Valeurs Usuelles (ng/l)	Moytr exprimée en multiple LS	
				PTH121	PTH122
DL	TOSOH Biosciences	ST AIA-PACK intact PTH	79,6	4,05	0,57
ED	ROCHE Diag.	Cobas PTH bio-intacte	56,9	3,35	0,59
QE	BECKMAN COULTER	Access Intact PTH	88,0	3,38	0,47
R8	DIASORIN S.A.	Liaison 1-84 PTH	36,8	4,76	0,69
RD	ROCHE Diag.	Cobas PTH	65,0	4,76	0,68
RJ	ABBOTT Diag.	Architect Intact PTH	68,3	5,52	0,94
S8	DIASORIN S.A.	Liaison N-Tact PTH	63,3	3,75	0,62
SA	SIEMENS M.S. D.	PTH intacte Immulite	87,0	5,5	0,77
SI	SIEMENS M.S. D.	Intact PTH ADVIA Centaur	72,0	5,29	0,60
SC	IDS	PTH intacte Isys	78,4	4,15	0,58

figure 6 : échantillon PTH121, histogramme de distribution des résultats de la PTH « toutes techniques ».

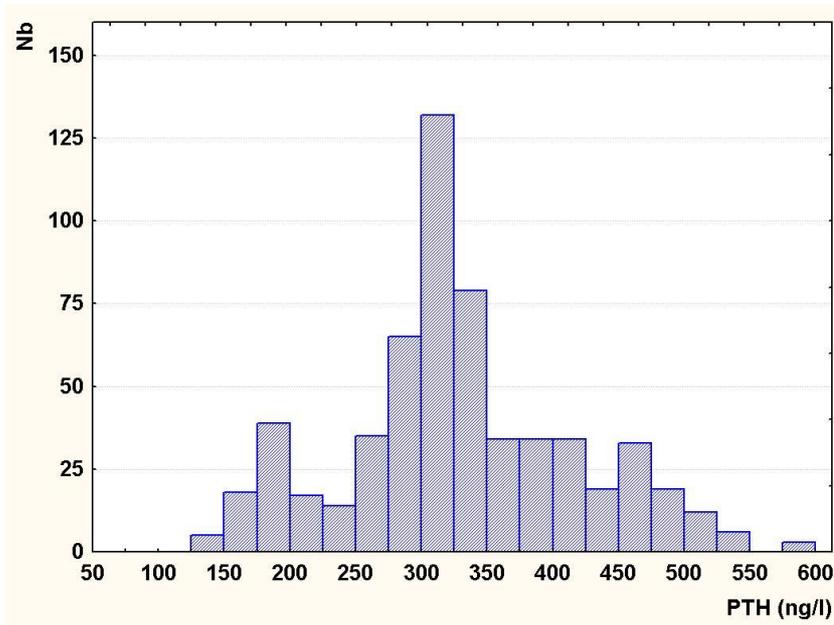


figure 7 : échantillon PTH122, histogramme de distribution des résultats de la PTH « toutes techniques ».

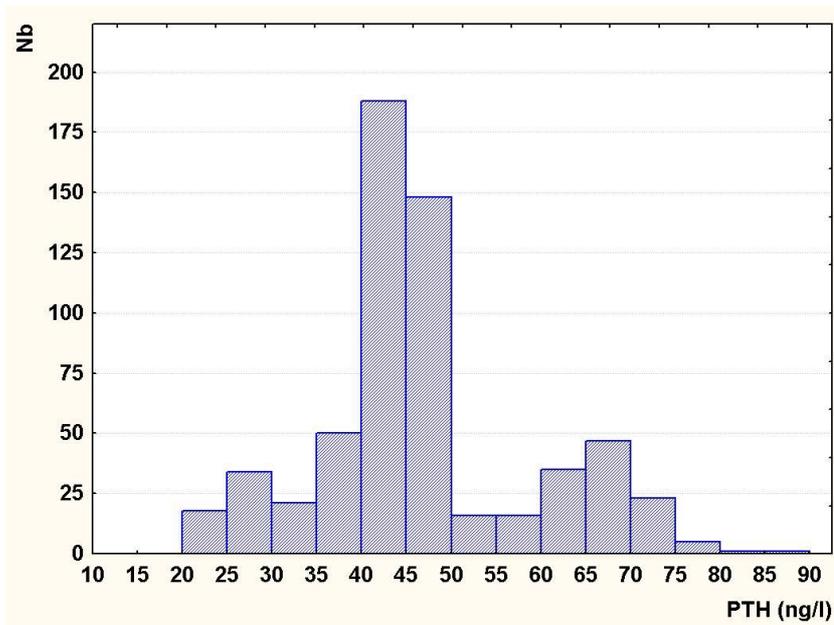


figure 8 : échantillon PTH121, résultats individuels obtenus lors de l'opération 12GPV1 avec les réactifs les plus utilisés ($n \geq 6$). Les rectangles représentent la dispersion intra-réactif, les triangles représentent les résultats individuels. Les 2 trousse de dosages dites de 3^e génération sont notées 3G.

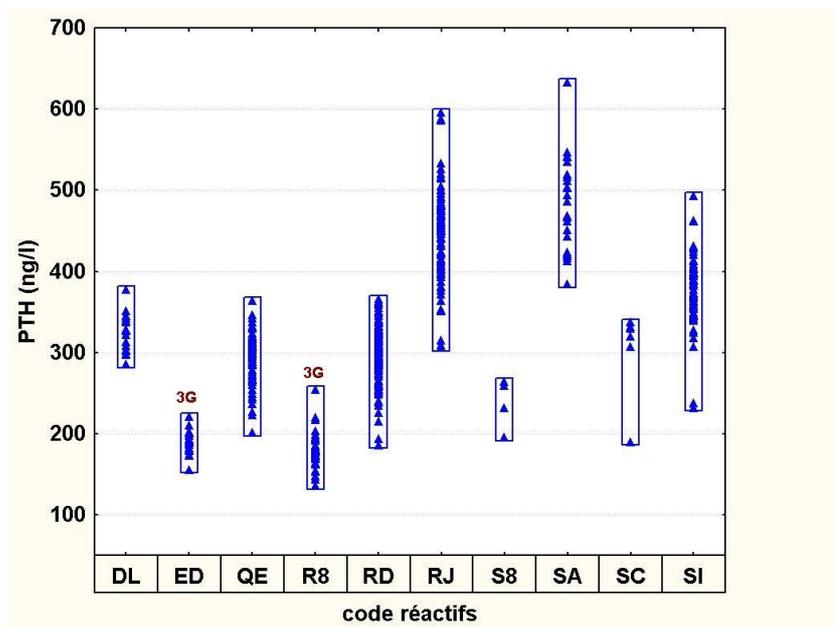
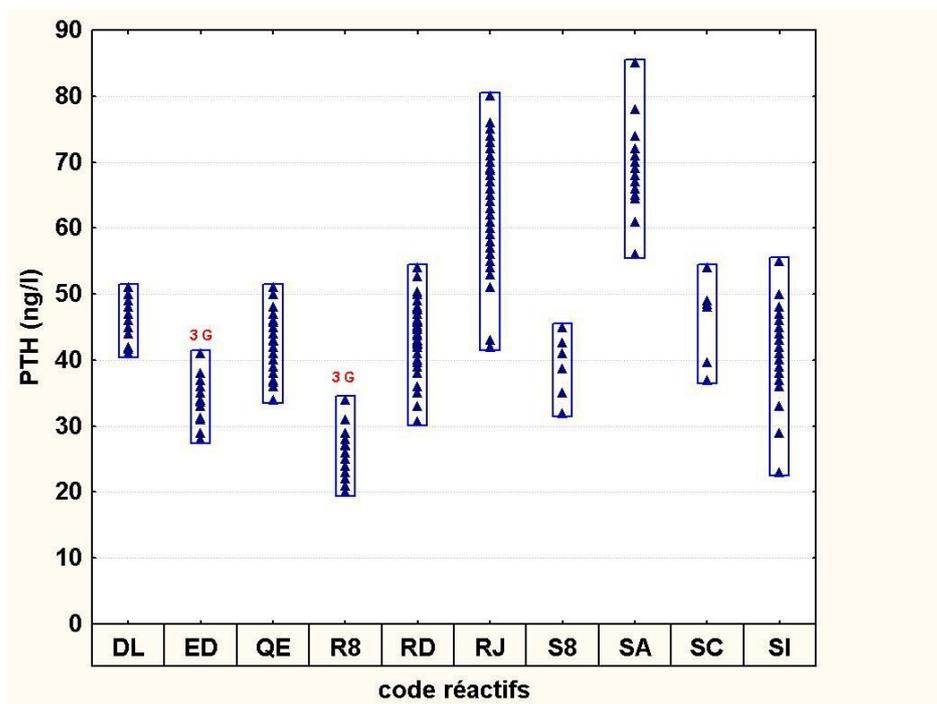


figure 9 : échantillon PTH122, résultats individuels obtenus lors de l'opération 12GPV1 avec les réactifs les plus utilisés ($n \geq 6$). Les rectangles représentent la dispersion intra-réactif, les triangles représentent les résultats individuels. Les 2 trousse de dosages dites de 3^e génération sont notées 3G.



Commentaire

La PTH est une hormone peptidique de 84 acides aminés sécrétée par les glandes parathyroïdes en réponse à une baisse de la calcémie ionisée. Son rôle principal est d'augmenter celle-ci en stimulant la résorption osseuse, la réabsorption tubulaire distale et, via la synthèse de la forme active de la vitamine D, l'absorption intestinale du calcium. La PTH 1-84 circule en présence de nombreux fragments issus du métabolisme des cellules parathyroïdiennes ou hépatiques : fragments N-terminaux actifs (1-34) et divers fragments C-terminaux inactifs. Le principal fragment C-terminal (7-84) semble même disposer d'une action hypocalcémisante antagoniste de la PTH 1-84.

Le dosage de la PTH est proposé chez 2 types de patients : chez toute personne nécessitant un diagnostic différentiel des anomalies du métabolisme phospho-calcique (hyperparathyroïdie primaire, bilan ostéoporose....) et chez les insuffisants rénaux chroniques (IRC) pour le suivi thérapeutique de l'hyperparathyroïdie secondaire (90% des dosages). Chez ces derniers, la clairance rénale des fragments de PTH peut être très diminuée, entraînant leur accumulation dans le sang.

Ces divers fragments circulants sont plus ou moins reconnus par les trousse de dosage, ce qui entraîne une variabilité inter-techniques importante. La réaction croisée des trousse avec ces fragments, généralement testée via le fragment 7- 84, est comprise entre 48 et 100% pour les dosages dits de seconde génération. Les trousse dites de troisième génération ne reconnaissent pas le fragment 7-84, et les résultats obtenus sont moindres. Ainsi les trousse [R8] Liaison 1-84 PTH DIASORIN et [ED] Cobas PTH bio-intact ROCHE, seuls dosages dits de 3^e génération utilisés lors de l'opération 2012 qui annoncent 0% de croisement, donnent les résultats les plus bas.

Il est important de connaître les caractéristiques de sa trousse et notamment, le pourcentage de croisement avec le fragment 7-84. Or, les données des notices ne permettent pas toujours de connaître le pourcentage de croisement. Ainsi, les notices de seulement 7 sur 14 trousse donnent ces précisions.

La variabilité inter-techniques très importante notée lors de l'opération est également liée au manque d'homogénéité des calibreurs utilisés. Il existe actuellement un standard international officiellement reconnu par l'OMS. L'ancien standard international 79/500, extrait peptidique qui contient vraisemblablement divers fragments de PTH et dont la composition exacte n'est pas connue, a été remplacé par un nouveau standard international, l'IS 95/646, préparation de hPTH (1-84) recombinante. A ce jour, les standards primaires utilisés par les sociétés sont, en règle générale, des standards synthétiques et les données de raccordement métrologique des trousse ne sont indiquées que pour 6 des 14 trousse utilisées lors de l'opération 12GPV1 avec 3 trousse rapportées à l'ancien standard OMS 79/500 et 3 trousse au SI 95/646. Rappelons qu'un contrôle du marché des dispositifs de dosage de PTH a été réalisé en 2009. Il s'agissait d'une évaluation des notices au regard des exigences essentielles de la directive européenne 98/79/CE portant notamment sur l'établissement des valeurs usuelles, la spécificité des dosages et le raccordement métrologique au matériel de référence, à la suite de laquelle l'Afssaps et le groupe d'experts ont diffusé aux fabricants et aux biologistes certaines recommandations (Rapport du contrôle de marché des dispositifs médicaux de diagnostic in vitro de dosage de la parathormone, Mars 2009).

Une mauvaise estimation des résultats de PTH peut avoir des conséquences importantes sur la prise en charge des patients : surcoût et examens complémentaires inutiles très coûteux ou invasifs en cas d'hyperparathyroïdie primaire (imagerie, cathétérisme, opération...); risque de sous- ou de surdosage thérapeutique susceptible d'induire des effets néfastes pour le patient lors du suivi thérapeutique de l'hyperparathyroïdie secondaire chez les insuffisants rénaux chroniques (IRC).

De nouvelles recommandations internationales éditées par le KDIGO (4) fixent les fourchettes diagnostiques et thérapeutiques devant être atteintes chez les IRC. Ainsi, pour les dialysés, le taux de PTH doit être maintenu entre 2 et 9 fois la limite supérieure des valeurs usuelles de la trousse.

Lors de l'opération 12GPV1, l'expression des résultats en multiple de la valeur supérieure des valeurs usuelles ne résout pas la dispersion des résultats posant le problème de l'hétérogénéité des populations utilisées pour déterminer ces valeurs usuelles. Les mêmes critères d'inclusions/exclusions devraient être utilisés par les fabricants pour établir les valeurs usuelles. Ainsi, une publication récente préconise d'utiliser une population de référence sans déficit en vitamine D et avec une fonction rénale normale pour établir les valeurs usuelles de PTH. En faisant cela, les auteurs (5) ont montré que les concentrations de PTH exprimées en multiple de la LS des valeurs usuelles étaient comparables d'une technique à l'autre chez des patients dialysés.

La détermination de la parathormone (PTH) est complexe ; malgré l'amélioration des dosages de PTH, les résultats demeurent encore trop variables. Les problèmes analytiques liés à l'hétérogénéité moléculaire et surtout à la diversité des calibrateurs utilisés, demeurent prépondérants. Un meilleur raccordement métrologique des trousseaux pourrait améliorer la comparabilité des résultats. Un travail international collaboratif est en cours.

Bibliographie

4. Kidney Disease : Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of chronic kidney disease-mineral and bone disorder (CKD-MBD). *Kidney International* 2009; 76 (Suppl 113): S1-S130.

5. Interpretation of serum PTH concentrations with different kits in dialysis patients according to the KDIGO guidelines : importance of the reference (normal) values. Cavalier E, Delanaye P et al *Neprol Dial Transplant* (2012) 27: 1950-1956.

25 OH Vitamine D Echantillons VITD121 – VITD122

Méthode statistique et expression des résultats

L'analyse statistique comporte les étapes suivantes :

- Exclusion des valeurs aberrantes très éloignées des autres résultats correspondant à des erreurs grossières.
 - Calcul de la valeur cible (moyenne tronquée, Mtr) sur l'ensemble des résultats et pour chaque réactif : la moyenne est obtenue après une double troncature à 2 écarts-types, c'est à dire après deux éliminations successives des valeurs en dehors de la moyenne ± 2 écarts-types. Cette double troncature a pour but de stabiliser la valeur cible en éliminant les valeurs extrêmes. Lorsqu'un même réactif peut être utilisé sur plusieurs automates, une comparaison statistique des résultats des couples « réactif/automate » est effectuée. Les résultats sont regroupés si aucune différence n'est notée.
 - Calcul du coefficient de variation inter-laboratoires obtenu après cette double troncature (CVtr) sur l'ensemble des résultats et pour chaque réactif : il est exprimé en % et calculé en divisant l'écart-type par la moyenne. Il estime la dispersion des résultats.
 - Ces calculs sont réalisés lorsque l'effectif avant troncature est suffisant ($n \geq 6$).
 - Calcul du CV intra-réactif médian : il correspond à la valeur médiane des CVtr inter-laboratoires intra-réactif, cette valeur sépare les réactifs en 2 groupes d'effectifs égaux. La moitié des réactifs présente un CVtr intra-réactif inférieur ou égal au CV médian.
 - Des limites acceptables (LA) sont utilisées pour apprécier les résultats obtenus par chaque laboratoire. Ces limites tiennent compte des performances analytiques des systèmes de dosage présents sur le marché mais également des exigences cliniques. Les LA sont exprimées en % et permettent de délimiter de part et d'autre de la cible (moyenne tronquée obtenue avec la même trousse) un intervalle à l'intérieur duquel un résultat est considéré comme « acceptable ». Une LA de 25% a été utilisée lors de l'opération 12GPV1.

Définition de l'échantillon

Deux échantillons lyophilisés ont été envoyés lors de l'opération 12GPV1.

Un pool sérique surchargé en 25 OH vitamine D3 (Sigma) a été utilisé pour moitié pour fabriquer l'échantillon VITD121. L'autre moitié devait servir après supplémentation par 100 nmol/L d'ergocalciférol Sigma (vitamine D2) à la fabrication de l'échantillon VITD122, afin de vérifier qu'un ajout d'ergocalciférol en quantité raisonnable n'interférerait pas sur les résultats du dosage de 25 OH vitamine D.

Cependant, la surcharge en ergocalciférol a été réalisée avec 1300 nmol/L du produit. L'effet de cette surcharge massive, très variable selon les trousseaux de dosages, n'a pas été détecté lors des essais réalisés préalablement à l'envoi mais lors de l'opération elle-même.

Les résultats obtenus avec cet échantillon n'ont donc pas été traités.

Avant l'envoi, l'expert J.C. Souberbielle a vérifié sur 5 flacons, la concentration en 25 OH vitamine D, ainsi que la stabilité à 4°C après reconstitution (tableau X). Les résultats après 72 heures ne sont pas statistiquement différents (test de Wilcoxon).

En 2012, la concentration de l'échantillon VITD121 se situait en dessous des valeurs souhaitables (le statut vitaminique souhaitable est compris entre 75 et 150 nmol/l).

Tableau X : résultats de l'étude de stabilité (dosages effectués par l'expert avec la trousse RIA DIASORIN [B9]).

	VITD121	
	résultat à T0	résultat à T72 heures
Médiane (nmol/l)	42,5	44,5

Réactifs utilisés

Lors de cette opération, deux types de techniques de dosage ont été utilisées, les immuno-dosages (réalisés ici par 98,5% des laboratoires) et les techniques séparatives (HPLC ou spectrométrie de masse, par 1,5% des laboratoires).

Au total 12 trousse ou techniques sont présentes (tableau XI, figure 10). Les techniques sont très largement automatisées, seuls quelques laboratoires (n=7) utilisent des techniques radio-immunologiques ou des techniques séparatives LC/MSMS (n=4) et HPLC (n=5). Deux laboratoires utilisent la trousse ORTHO VITROS.

La répartition des trousse de réactifs les plus fréquentes (n ≥ 6) est donnée dans le tableau XI et sur la figure 10. En regard des résultats de 2011, on note une diminution du nombre d'utilisateurs des techniques radioactives (7 versus 16) confirmant la disparition des méthodes radioactives au profit des techniques automatisées.

figure 10 : répartition des trousse de dosage les plus utilisées (n≥6) pour doser la 25 OH-Vitamine D lors de l'opération 12GPV1.

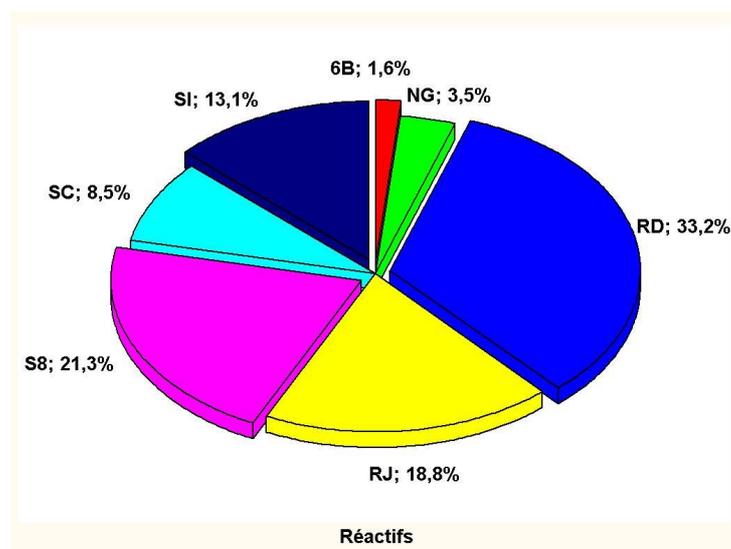


tableau XI : réactifs les plus utilisés (n ≥ 6) pour doser la 25OH-Vitamine D lors de l'opération 12GPV1.

Code	trousse, distributeurs	Nombre d'utilisateurs
		12GPV1
NG	25 OH Vitamine D EIA, IDS/INGEN	20
6B	ELISA 25OH vitamine D2+D3 BIOADVANCE	9
RD	Cobas vitamine D total, ROCHE	187
RJ	ARCHITECT 25 OH vitamine D, ABBOTT	107
S8	LIAISON 25 OH vitamine D, DIASORIN	120
SC	25 OH ISYS, IDS	48
SI	ADVIA Centaur vitamine D total, SIEMENS	73

Résultats des participants

Le dosage de la 25 OH vitamine D a été réalisé par 72,4% des participants. Les principaux résultats statistiques concernant l'opération 12GPV1 sont donnés dans le tableau XII et sur les figures 11 et 12.

La distribution des résultats montre un étalement important des résultats sur la droite. La dispersion inter-laboratoires globale est élevée (CVTr = 21,4%). L'écart entre la moyenne de la technique donnant les résultats les plus élevés ([SI], ADVIA Centaur SIEMENS) et celle donnant les résultats les plus bas ([RD] Cobas ROCHE) est de 85% (expression en % par rapport à la moyenne toutes techniques). Les résultats diffèrent significativement selon la trousse utilisée (test de Kruskal Wallis, $p < 0,0001$).

Les deux tiers des trousse utilisées (4/7) présentent une précision correcte avec des CV inter-laboratoires intra-réactif inférieurs à 10%. La valeur médiane des CV inter-laboratoires intra-réactif est de 9,0%.

tableau XII : résultats de la 25 OH vitamine D obtenus lors de l'opération 12GPV1 (résultats exprimés en nmol/l).

code	distributeur	Réactif	Nbnt	Moytr	CVtr
VITD121					
		Toutes techniques	581	32,38	21,43
NG	IDS / NGEN	25 OH Vitamin D EIA	20	45,85	8,97
RD	ROCHE Diag.	Cobas Vitamin D total	186	26,04	14,15
RJ	ABBOTT Diag.	Architect 25 OH Vitamin D	106	33,85	6,83
S8	DIASORIN S.A.	Liaison 25-OH vitamin D Total	120	36,33	7,99
SC	IDS	25 OH Isys	48	27,87	13,12
SI	SIEMENS MED.SOL. DIAGN.	ADVIA Centaur / Centaur CP Vitamine D total	73	53,46	14,38
6B	BIOADVANCE	Elisa 25OH vitamin D2+D3	9	37,50	8,43

Pour 4 laboratoires dosage effectué par LC-MS/MS, résultats : 41 – 33 – 37 – 23 nmol/l.

Pour 5 laboratoires dosage effectué par spectrométrie de masse, résultats : 54,4 – 43 – 29 – 45 – 33 pmol/l.

Pour 5 laboratoires dosage effectué avec la trousse RIA Diasorin, résultats : 37 – 48 – 37 – 38 – 40 pmol/l.

Pour 2 laboratoires, dosage effectué avec la trousse RIA IDS, résultats : 34 – 37 nmol/l.

Pour 2 laboratoires dosage effectué avec la trousse VITROS ORTHO, résultats : 41 – 65 pmol/l.

figure 11 : échantillon VITD121, histogramme de distribution des résultats de la 25 OH vitamine D « toutes techniques ».

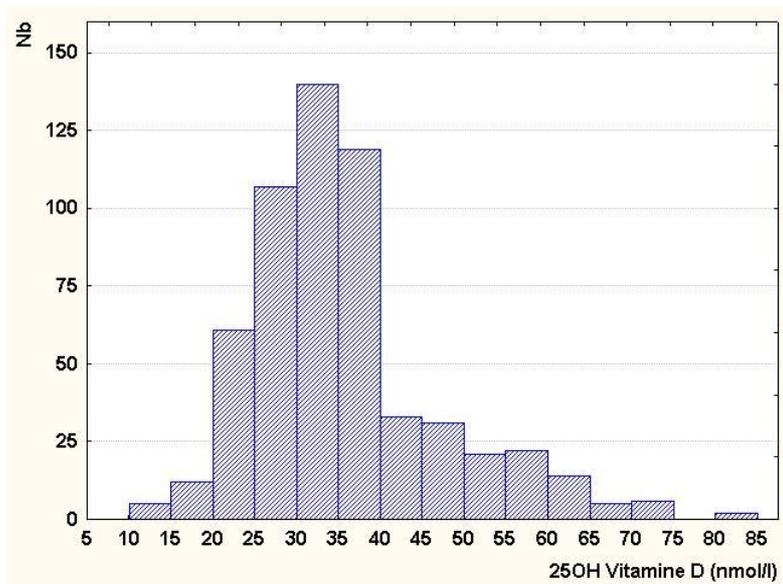
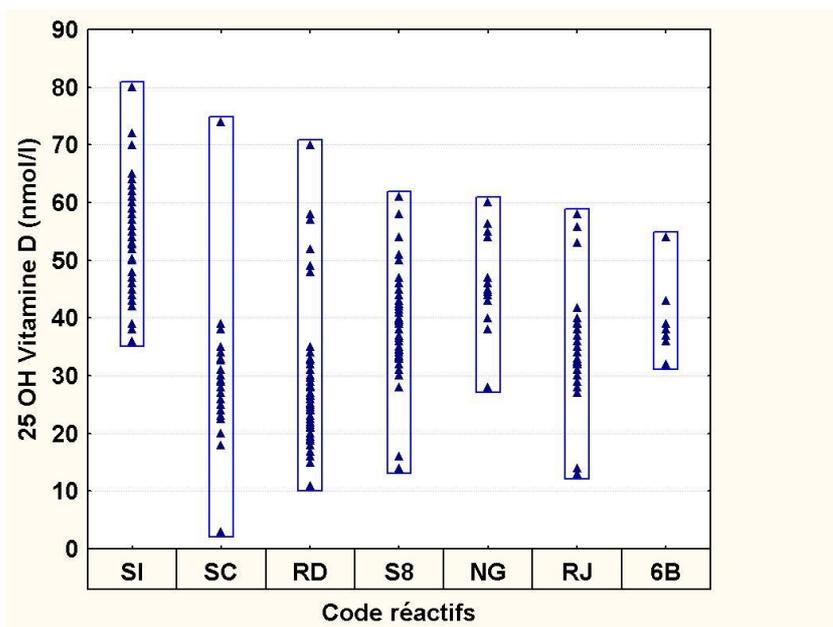


figure 12 : Résultats individuels obtenus lors de l'opération 12GPV1 avec les réactifs les plus utilisés ($n \geq 6$). Les rectangles représentent la dispersion intra-réactif, les triangles représentent les résultats individuels.



Commentaire

La vitamine D est une pro-hormone produite par la peau à partir du 7-déhydrocholestérol, sous l'influence des rayons UVB, et apportée en faible quantité par les aliments. Pour être efficace, elle doit d'abord être transformée dans le foie en 25 OH vitamine D (forme de stockage) puis dans les reins en 1-25 (OH)₂ vitamine D (forme active). Seul le dosage de la 25 OH vitamine D permet de déterminer le statut global de la vitamine D.

Ces dix dernières années, le nombre de publications scientifiques et médicales sur la vitamine D a explosé. A côté des effets connus sur le métabolisme phospho-calcique et osseux, les effets de la vitamine D sur de nombreux autres tissus ou fonctions de l'organisme (neuromusculaire, système immunitaire, cardiovasculaire, angiogenèse...) sont de mieux en mieux documentés. En parallèle, un grand nombre de fabricants ont proposé ce dosage sur leurs automates. Le dosage de 25 OH vitamine D ne fait plus partie du domaine de l'analyse « ultra-spécialisée » réservé à quelques équipes expérimentées. Tout ceci explique pourquoi la prescription du dosage de vitamine D est en constante augmentation. Ainsi, le nombre d'actes réalisés a été multiplié par 10 depuis 2005.

Cependant, le dosage de vitamine D pose encore de nombreux problèmes liés notamment au fait que la 25 OH vitamine D existe sous deux formes principales, la 25 OH vitamine D₂ (ou ergocalciférol) et la 25 OH vitamine D₃ (ou cholécalciférol). La supplémentation des patients peut se faire sous les 2 formes (spécialités contenant de la vitamine D₂ ou de la vitamine D₃). Il est donc primordial que les trousse de dosages puissent doser les deux formes de vitamine D.

De plus, la 25 OH vitamine D est une molécule hautement hydrophobe susceptible d'induire un effet « matrice » lorsque les échantillons proposés par les évaluations externes de qualité ne sont pas des échantillons sériques natifs (échantillons commutables). Pour cette opération 2012, la composition des échantillons était strictement définie. Il s'agissait d'une matrice sérique supplémentée en 25 OH vitamine D₃, forme reconnue à 100% par toutes les trousse et techniques, à une concentration située en dessous des valeurs souhaitables. Un effet matrice étant possible, une comparaison stricte des résultats des différentes trousse et techniques entre elles n'est pas possible. Toutefois les résultats obtenus montrent une dispersion importante des résultats pour un échantillon ne contenant que de la 25 OH vitamine D₃ à une concentration fréquemment rencontrée. Sur cette opération 2012, on relève deux techniques (trousse ROCHE Cobas et IDS Isys) donnant des résultats particulièrement bas avec respectivement 34 et 21% de résultats inférieur ou égal à 25 nmol/l (limite de la carence en vitamine D) et une technique (trousse ADVIA CENTAUR SIEMENS) donnant des valeurs proches de la limite inférieure des valeurs souhaitables. L'établissement du statut vitaminique D est donc très dépendant de la méthode de dosage utilisée.

Le développement récent d'une méthode de référence pour doser la 25 OH vitamine D et la possibilité d'utiliser un matériau de référence (SMR972) présentant des valeurs certifiées de 25 OH vitamine D₂, 25 OH vitamine D₃ et de 3-épi 25 OH vitamine D devraient sans doute améliorer la situation dans les années à venir.

Les résultats de cette opération peuvent également permettre d'apprécier la dispersion intra-technique. Celle-ci est améliorable ; en effet trois techniques automatisées présentent une dispersion supérieure à 10% alors que le CV inter-laboratoires intra-technique de 2 techniques non automatisées est inférieur à 10%.

Conclusion

Concernant l'hGH, malgré l'apparition de nouvelles trousse de dosage, les résultats obtenus en 2012 confirment une atténuation de l'écart inter-techniques. Toutefois, la standardisation ne permet pas de régler complètement le problème. Un écart de 20 à 40%, selon la concentration contrôlée, est observé. Il peut être lié à un effet matrice connu depuis longtemps, l'utilisation pour la fabrication des étalons d'un milieu autre qu'un sérum humain sans hGH (1).

Concernant la PTH, la dispersion des résultats obtenus avec les trousse actuellement disponibles est importante. Cette dispersion s'explique d'une part, par l'hétérogénéité moléculaire de la PTH et la spécificité du couple d'anticorps utilisé, et d'autre part, par le manque d'homogénéité des calibrateurs utilisés. Toutefois, la précision des techniques (CV inter-laboratoires intra-technique) est globalement satisfaisante. L'expression des résultats en multiple de la LS des valeurs usuelles préconisée pour les patients dialysés atténue mais ne résout pas la dispersion inter-laboratoires inter-techniques. Ceci est probablement en partie dû à la disparité des populations de référence utilisées pour établir les valeurs usuelles proposées dans les

différentes notices. Les notices des trousseaux manquent parfois de précision, des renseignements manquent, en particulier le pourcentage de croisement pour le fragment 7-84 et d'autres formes moléculaires ; le raccordement métrologique ainsi qu'une description extensive des populations de référence utilisées pour établir les valeurs usuelles.

Concernant la 25 OH vitamine D, la dispersion inter-techniques des résultats est importante sur cet échantillon enrichi en 25 OH vitamine D3 et dont la concentration est inférieure aux valeurs souhaitables. On notera toutefois que la comparaison inter-méthodes n'est vraiment possible que sur des sérums natifs et non pas sur des échantillons enrichis. De plus, de nombreuses trousseaux ou techniques utilisées présentent une précision intra-réactif améliorable avec des CV inter-laboratoires intra-réactif supérieurs à 10%. Un contrôle effectué sur un échantillon natif sera nécessaire pour contrôler ces résultats.