

Annales du Contrôle National de Qualité des Analyses de Biologie Médicale

Hormone de croissance (hGH)

Hormone de
croissance

09HGH1 et 09HGH2

2009

Michèle NOEL (Afssaps)

Jean-Claude SOUBERBIELLE (Hôpital Necker, Paris)

Opération	09HGH1	09HGH2
Expédition	25/05/09	07/12/09
Clôture	22/06/09	04/01/10
Edition des comptes-rendus individuels	31/08/09	31/03/10
Paramètre contrôlé	hGH	hGH
Echantillon envoyé	GH198	GH199
Nombre de laboratoires concernés*	92	86
Nombre de laboratoires participants**	91	86

* Laboratoires ayant déclaré à l'Afssaps 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 des opérations de l'année 2009

En 2009, deux opérations de contrôle de qualité portant sur le dosage de l'hormone de croissance (hGH) ont été réalisées. Les laboratoires concernés ont largement participé à ces 2 opérations (participation de 98,9% pour 09HGH1 et de 100% pour 09HGH2).

Lors des 2 opérations, réalisées en juin et en décembre 2009, les échantillons envoyés étaient issus de pools lyophilisés de sérums natifs.

En 2009, toutes les trousse de réactifs utilisées, sauf une, sont désormais étalonnées contre le Standard International SI 98/574, préparation d'hGH recombinante (isoforme 22 kDa).

Les résultats obtenus lors de la deuxième opération en 2009 ont montré, pour un échantillon de concentration voisine de 20 mUI/l (seuil décisionnel), une atténuation des discordances inter-techniques.

Enfin, le niveau de connaissance des laboratoires semble s'être amélioré. En effet, d'une part, tous les laboratoires connaissent le standard international utilisé pour la calibration de leur trousse et, d'autre part, les biologistes suivent largement les recommandations de la SFBC (1) et rendent les résultats en mUI/l.

Méthode statistique et expression des résultats

Le traitement statistique des données comporte plusieurs étapes :

- Calcul de la valeur cible : vu le faible nombre de résultats, c'est la médiane (Med), toutes techniques confondues ainsi que la médiane pour la trousse utilisée. Cette dernière n'est calculée que si l'effectif est suffisant ($n \geq 3$). 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.
- Calcul du CV médian : il correspond à la médiane des CVtr inter-laboratoires « intra-réactif ». La moitié des réactifs fournissent un CVtr inférieur ou égal au CV médian.
- La comparaison des résultats entre eux est effectuée par des tests non paramétriques adaptés (test de Kruskal Wallis). Les résultats sont significativement différents si $p < 0,05$.

Définition de l'échantillon

Des échantillons lyophilisés ont été envoyés lors des opérations 09HGH1 et 09HGH2. Ils ont été fabriqués à partir de pools sériques natifs et ne sont pas surchargés.

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).

tableau I : résultats de l'étude de stabilité.

	GH198		GH199	
	résultat à T0	résultat à T48 heures	résultat à T0	résultat à T48 heures
Médiane (mUI/l)*	2,6	2,9	22,0	22,0

* dosages effectués par l'expert avec la trousse Access BECKMAN [QE].

Réactifs utilisés

La répartition des trousse de réactifs utilisées lors des opérations 09HGH1 et 09HGH2 est donnée dans le tableau II. La figure 1 illustre la répartition des trousse de dosage utilisées lors de l'opération 09HGH1. On n'observe pas de modification importante au cours de l'année. Les trousse utilisées sont des techniques immunométriques à deux sites (méthode « sandwich ») qui utilisent

- un traceur isotopique pour quatre d'entre elles : Irma BRAHMS [AM] ; Irma DIASORIN [B9] ; RIACT CIS bio int. [BN] ; Irma BECKMAN [BO],
- un traceur non isotopique pour les cinq autres : AIA TOSOH [DL] ; Delfia PERKIN ELMER [KC] ; Access BECKMAN [QE] ; Immulite SIEMENS [SA] ; Liaison DIASORIN [S8]. Ces dernières sont automatisées.

Au total 24,1% des laboratoires ayant répondu lors de l'opération 09HGH1 et 23,3% lors de l'opération 09HGH2 utilisent une technique avec traceur radioactif, confirmant la diminution progressive du nombre d'utilisateurs des techniques isotopiques, amorcée depuis 2000 (54% en 2000 et 30,7% en 2008).

En 2009, une seule trousse de réactif (Delfia PERKIN ELMER [KC]) reste standardisée sur l'ancien Standard International : SI 80/505, une préparation d'hGH hypophysaire. Toutes les autres trousse utilisées lors de l'opération 09HGH1 sont standardisées sur SI 98/574, une préparation d'hGH recombinante (isoforme 22 kDa).

figure 1 : répartition des trousse de dosage utilisées lors de l'opération 09HGH1.

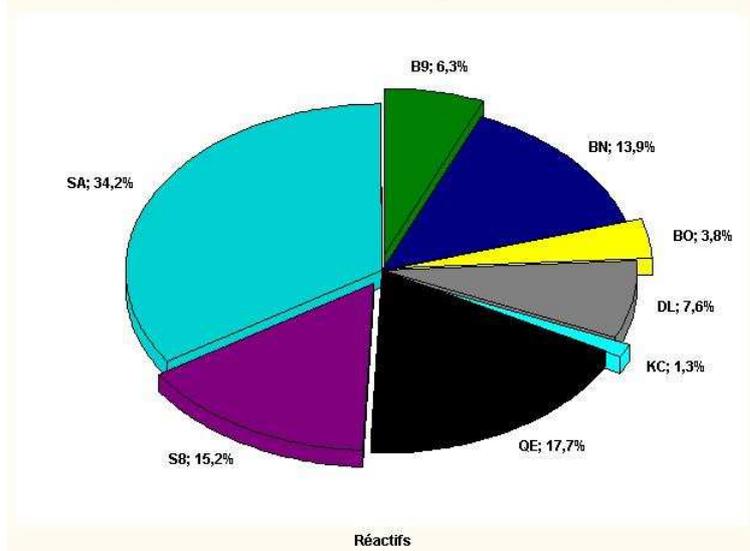


tableau II : réactifs utilisés lors des opérations 09HGH1 et 09HGH2.

Code	technique	trousse, distributeurs	Nombre d'utilisateurs	
			09HGH1	09HGH2
AM	isotopique	IRMA, BRAHMS	0	1
B9		CTK-IRMA, DIASORIN	5	4
BN		RIACT, CIS bio int.	11	10
BO		IRMA GH, BECKMAN	3	4
DL	non isotopique	AIA Pack / STAT AIA Pack, TOSOH	6	6
KC		DELFLA/ AutoDELFLA, PERKIN ELMER	1	1
QE		Access, BECKMAN	14	13
S8		Liaison, DIASORIN	12	15
SA		Immulate, SIEMENS	27	28

09HGH1

Echantillon GH198

Résultats des participants

Les principaux résultats statistiques concernant l'opération 09HGH1 sont donnés dans le tableau III et sur la figure 2.

Le nombre de laboratoires ayant rendu des résultats est stable, sans modification majeure depuis 2008.

Par rapport aux résultats obtenus en 2008 pour un échantillon de concentration similaire (inférieure à 5 mUI/l), la dispersion inter-laboratoires inter-réactifs s'est accrue (12,3% en 2008 versus 20,0% en 2009).

De plus, les résultats diffèrent significativement selon la trousse utilisée (test de Kruskal Wallis, $p < 0,0001$). Pour les trousse avec plus de 4 utilisateurs, on distingue 2 groupes : le groupe 1, constitué des trousse Immulite SIEMENS [SA], CTK-IRMA DIASORIN [B9], AIA Pack TOSOH [DL], donne des résultats statistiquement plus élevés (environ 30%) que ceux obtenus par les trousse du groupe 2 : Access BECKMAN [QE], RIACT CIS bio int. [BN], Liaison DIASORIN [S8] et IRMA GH BECKMAN [BO].

L'écart entre la médiane de la trousse donnant les résultats les plus hauts AIA Pack TOSOH [DL] et celle donnant les résultats les plus bas (IRMA GH BECKMAN [BO]) est de 39% (expression en % par rapport à la médiane toutes techniques), identique au résultat obtenu en 2008 (38%).

La majorité des trousse utilisées présente une précision correcte avec des CV inter-laboratoires intra-réactif inférieurs à 10%. La valeur médiane des CV inter-laboratoires intra-réactif est de 8,1%.

tableau III : résultats obtenus lors de l'opération 09HGH1 (résultats exprimés en mUI/l).

Code	Distributeur	Réactif	N	Ntr	Med (mUI/l)	R (%)	Interquartile (mUI/l)	Min (mUI/l)	Max (mUI/l)	Mtr (mUI/l)	CVtr (%)
GH198											
B9	DIASORIN	HGH-CTK IRMA	5	5	3,5	113	3,3 - 3,9	2,9	4,1	3,5	13,50
BN	CIS BIO INT.	hGH-RIACT	11	10	2,8	90	2,6 - 2,8	2,4	2,9	2,8	3,80
BO	BECKMAN COULTER	IRMA GH	3	3	2,8	90	N.C.	2,6	3,3	2,9	12,40
DL	TOSOH BIOSCIENCE	AIA Pack/STAT AIA Pack HGH	6	6	3,9	126	3,6 - 4,1	2,8	4,3	3,8	14,00
KC	PERKIN ELMER INST.	DELFLA/AutoDELFLA GH	1	1	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.
QE	BECKMAN COULTER	Access Ultrasensitive hGH	14	14	2,7	86	2,6 - 2,9	2,4	3,0	2,7	8,20
S8	DIASORIN	Liaison hGH	12	11	3,1	100	3,0 - 3,2	2,5	3,3	3,1	5,10
SA	SIEMENS	Imm. 2000/Immulite 2500 GH	27	25	3,8	123	3,6 - 4,1	1,2	5,4	3,8	8,10

La valeur trouvée pour la trousse DELFIA [KC] est : 2,5 mUI/l

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

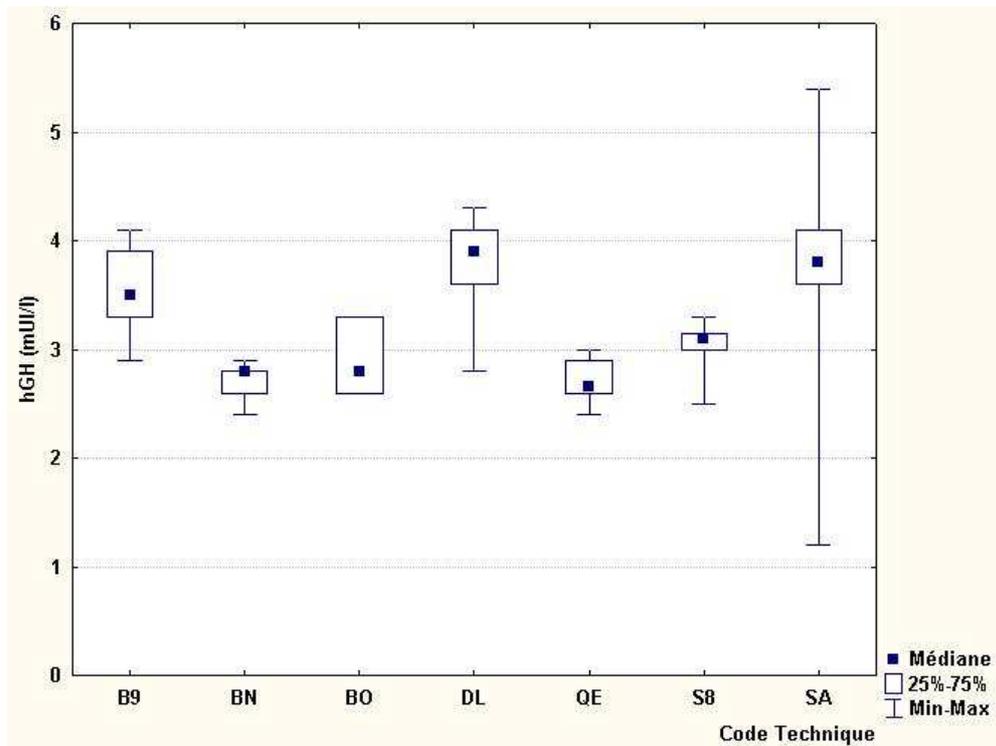
Max : maximum

Mtr : moyenne arithmétique calculée à partir de Ntr

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

NC : non calculé

figure 2 : Résultats obtenus lors de l'opération 09HGH1 avec les réactifs les plus utilisés ($n \geq 3$). Les rectangles représentent l'espace interquartile (percentile 25 – percentile 75), ainsi que la position de la médiane (point), les points hauts et bas positionnent respectivement les valeurs maximales et minimales obtenues.



09HGH2 Echantillon GH199

Résultats des participants

Les principaux résultats statistiques concernant l'opération 09HGH2 sont donnés dans le tableau IV et sur la figure 3.

Par rapport aux résultats obtenus en 2006 pour un échantillon de concentration similaire (proche de 20 mUI/l), une amélioration de la dispersion inter-laboratoire inter-réactifs est notée (en 2006 : 15,8% versus en 2009 : 11,8%)

L'écart entre la médiane de la trousse donnant les résultats les plus élevés (AIA TOSOH [DL]) et celle donnant les résultats les plus faibles (BECKMAN Access [QE]) est de 29,6% (expression en % par rapport à la médiane toutes techniques).

Toutefois, les résultats diffèrent significativement selon la trousse utilisée (test de Kruskal Wallis, $p < 0.0001$), les trousse BECKMAN Access [QE] et IRMA [BO] donnant des résultats statistiquement plus faibles.

En décembre 2009, pour le niveau de concentration contrôlé, toutes les trousse utilisées sauf une présentent une précision correcte avec des CV inter-laboratoires intra-réactif inférieurs à 10%. La valeur médiane des CV inter-laboratoires est de 7,0%, en amélioration par rapport au CV médian obtenu en 2006 : 9,2% avec un échantillon de concentration équivalente (GH193).

tableau IV : résultats obtenus lors de l'opération 09HGH2 (résultats exprimés en mUI/l).

Code	Distributeur	Réactif	N	Ntr	Med (mUI/l)	R (%)	Interquartile (mUI/l)	Min (mUI/l)	Max (mUI/l)	Mtr (mUI/l)	CVtr (%)
GH 199											
AM	BIO SOURCE	hGH IRMA	1	1	N.C.	N.C.	NC	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.
B9	DIASORIN	HGH-CTK IRMA	4	4	27,7	109	25,5-28,8	23,8	29,3	27,1	8,80
BN	CIS BIO INT.	hGH-RIACT	10	9	25,4	100	24,7-26,1	21,3	27,1	25,5	3,90
BO	BECKMAN COULTER	RMA GH	4	4	21,0	82	18,2-23,2	17,4	23,5	20,7	14,30
DL	TOSOH BIOSCIENCE	A/A Pack/STAT A/A Pack HGH	6	6	26,0	110	26,3-28,8	24,3	29,7	27,5	7,20
KC	PERKIN ELMER INST.	DELFI/AutoDELFI A GH	1	1	N.C.	N.C.	NC	N.C.	N.C.	N.C.	N.C.
QE	BECKMAN COULTER	Access Ultrasensitive hGH	13	12	20,6	81	19,9-21,1	17,1	22,2	20,7	4,30
S8	DIASORIN	Liaison hGH	15	14	23,8	93	23,2-25,5	20,1	26,5	24,3	5,70
SA	SIEMENS	m./m. 2000/Immuite 2500 GH	28	27	27,3	107	26,1-28,9	24,3	34,2	27,5	7,00

Les valeurs trouvées par les utilisateurs de la trousse IRMA Biosource [AM] sont les suivantes : 19,6 et 22,5 mUI/l et par l'utilisateur de la trousse DELFIA [KC] : 22,4 mUI/l.

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

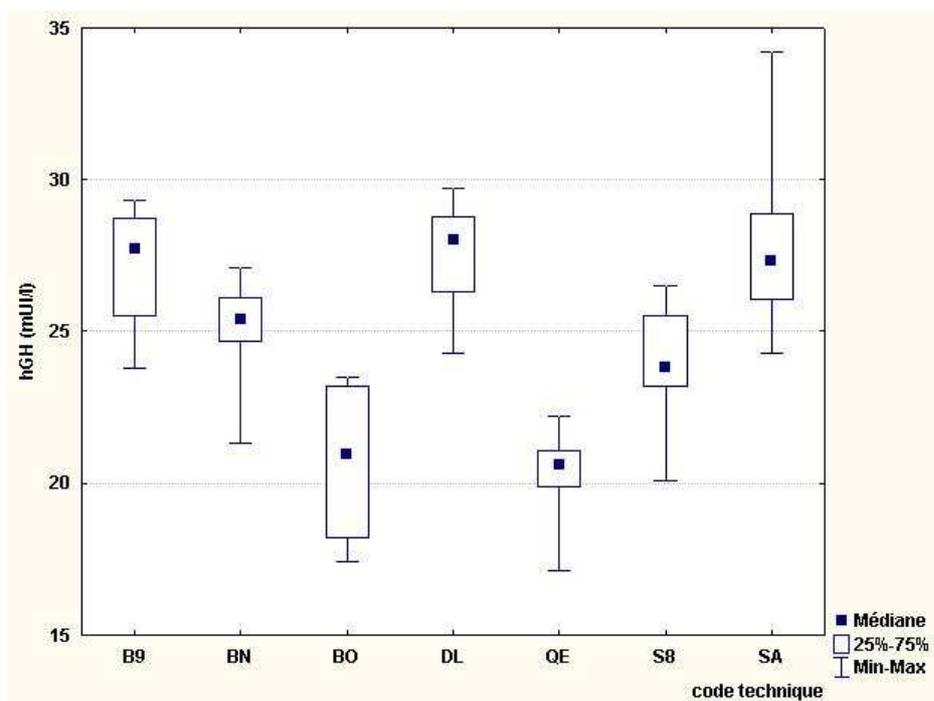
Max : maximum

Mtr : moyenne arithmétique calculée à partir de Ntr

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

NC : non calculé

figure 3 : Résultats obtenus lors de l'opération 09HGH2 avec les réactifs les plus utilisés (n ≥ 4). Les rectangles représentent l'espace interquartile (percentile 25 – percentile 75), ainsi que la position de la médiane (point), les points hauts et bas positionnent respectivement les valeurs maximales et minimales obtenues.



Evolution des « connaissances » en 2009.

Depuis 2005, les biologistes doivent préciser sur le bordereau-réponse le standard international, l'unité et le facteur de conversion utilisés habituellement pour le rendu des résultats.

L'analyse des réponses montre que les résultats sont tous exprimés par rapport au standard international utilisé pour étalonner leur trousse de dosage (09HGH1 et 09HGH2 : 100%). De plus, les laboratoires suivent très majoritairement les recommandations SFBC (1) avec respectivement 54 laboratoires, soit 68,4% lors de l'opération 09HGH1 et 52 laboratoires lors de l'opération 09HGH2, soit 63,4% exprimant strictement leurs résultats en mUI/l du SI 98/574. Pour 8 laboratoires, soit 10,1% (09HGH1) et 9,8% (09HGH2), le rendu des résultats se fait en mUI/l et en ng/ml du SI 98/574. Enfin, pour les laboratoires rendant uniquement leurs résultats en ng/ml, aucun laboratoire sur 16 (09HGH1) et un seul laboratoire sur 19 (09HGH2) utilise encore un facteur de conversion erroné.

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 convertir les ng en μ UI.

Commentaire

Fin 2009, huit des neuf trousse de dosage utilisées en France sont calibrées contre le SI 98/574.

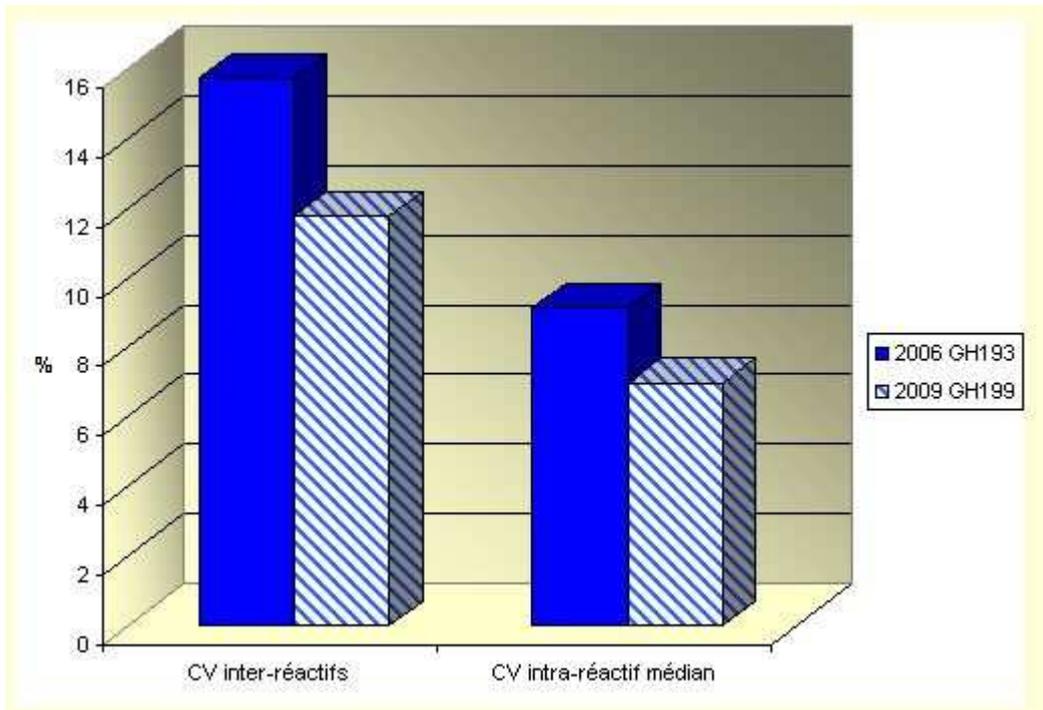
Tous les laboratoires connaissent le standard international utilisé pour la calibration de leur trousse.

En termes de rendu de résultats nous observons que le nombre de laboratoires rendant uniquement des « ng/ml » est stable (23% en décembre 2009 versus 20% en juin 2009). 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).

Lors de la première opération 2009, un échantillon de concentration faible (<5 mUI/l) était contrôlé. La comparaison des résultats avec ceux obtenus en 2008 avec un échantillon comparable suggère une relative stabilité des performances. En effet, bien que la dispersion des résultats inter-réactifs se soit accrue en 2009, l'écart en % entre la médiane de la trousse donnant les résultats les plus élevés et celle donnant les résultats les plus faibles reste stable.

Par contre, les résultats de l'opération 09HGH2 suggèrent, par comparaison avec les résultats obtenus lors de l'opération 06HGH1 avec un échantillon comparable (pool de sérum lyophilisé, concentration voisine de 20 mUI/l), une amélioration de la dispersion des résultats inter-réactifs et intra-réactifs (figure 5). Ainsi, la dispersion inter-réactifs passe de 15,8 à 11,8% entre 2006 et 2009. De même le CV intra-réactif médian qui était de 9,2 % en 2006 est de 7% en 2009. L'effort de standardisation réalisé depuis 2003 par les industriels porte ses fruits. Le resserrement des résultats dans une zone proche du seuil décisionnel utilisé pour le traitement par hGH chez l'enfant est particulièrement important.

figure 5 : Evolution de la dispersion des résultats inter et intra-réactifs entre 2006 et 2009 pour des échantillons de concentration voisine de 20 mUI/l d'hGH.



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. TRAINER P et al Consensus statement on the standardisation of GH assays. Eur J Endocrinol 2006, 155, 1-2.