

Annales du Contrôle National de Qualité des analyses de biologie médicale

Dosage des marqueurs sériques maternels de la trisomie 21 :
- deuxième trimestre (AFP, hCG, hCG β , estriol libre)
- premier trimestre (hCG β , PAPP-A)

Marqueurs sériques
maternels de la trisomie 21

13T211 et 13T212

Juin et Décembre 2013

Septembre 2014

Marqueurs sériques maternels de la trisomie 21 2013

Michèle NOEL (ANSM)
Françoise MULLER (Hôpital Robert Debré, Paris)

| | 13T211 | 13T212 |
|--|---|------------------------------|
| Expédition | 15/04/2013 | 09/12/2013 |
| Clôture | 13/05/2013 | 06/01/2014 |
| Edition des comptes-rendus individuels | 29/07/2013 | 13/02/2014 |
| Echantillon - Paramètres contrôlés | 13TA : AFP hCG hCG β estriol libre 13TB : PAPP-A hCG β | 13TC : PAPP-A hCG β |
| Nombre de laboratoires concernés* | 87 | 87 |
| Nombre de laboratoires participants** | 86 | 87 |

* 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 des opérations 2013

Deux opérations de contrôle du dépistage de la trisomie 21 fœtale par les marqueurs sériques maternels ont été réalisées en 2013.

Au total, 87 laboratoires étaient concernés. Lors de l'opération 13T211, un échantillon permettait de contrôler les marqueurs sériques maternels de la trisomie 21 utilisés pour le dépistage au second trimestre et un échantillon permettait de contrôler les paramètres utilisés pour le dépistage au premier trimestre. Lors de l'opération 13T212 un seul échantillon a été envoyé, il permettait de contrôler les paramètres utilisés pour le dépistage au premier trimestre.

Les résultats devaient être rendus en unité et en Multiple de la Médiane (MoM). A partir de simulations de dossiers de patientes, le laboratoire devait effectuer un calcul de risque combinant l'âge maternel, les marqueurs sériques et éventuellement la clarté nucale puis interpréter le résultat. Trois calculs de risque étaient demandés lors de l'opération 13T211 (2^e trimestre, 2^e trimestre séquentiel intégré, 1^{er} trimestre), un seul (1^{er} trimestre) lors de l'opération 13T212. Le taux sérique d'AFP devait être commenté. Les caractéristiques générales des résultats obtenus pour les marqueurs sériques maternels lors de ces 2 opérations sont rapportées dans le tableau I.

Concernant le dépistage au deuxième trimestre et deuxième trimestre intégré, la spécificité de l'échantillon 13TA (modification de l'équilibre hCG – fraction β -libre) est en grande partie responsable de l'absence d'interprétation consensus sur l'opération 13T211 pour le dépistage 2T. L'excès de fraction β -libre conduit à accroître le risque calculé et fait basculer l'interprétation dans le groupe à risque.

Concernant le dépistage au premier trimestre, pour la PAPP-A, comme en 2010, 2011 et 2012, quelle que soit la concentration étudiée, l'écart inter-technique est insuffisamment corrigé par la transformation des résultats en MoM.

Les résultats observés montrent une bonne participation des laboratoires au Contrôle national de qualité, l'utilisation de techniques présentant une précision correcte, des réponses cohérentes des participants en termes de commentaire du risque de trisomie 21 et du taux d'AFP.

tableau I : Récapitulatif des résultats « toutes techniques » obtenus lors des opérations 13T211 et 13T212

| Paramètres | | 13T211 | | | | 13T212 | |
|----------------------|---------------------------|---------------------------|------|------------------|-------|------------------|-------|
| | | Echantillon 13TA | | Echantillon 13TB | | Echantillon 13TC | |
| | | Résultat | MoM* | Résultat | MoM* | Résultat | MoM* |
| 2T | AFP | Nombre total de résultats | 86 | 85 | | | |
| | | Médiane (kUI/l - MoM) | 24,3 | 0,79 | | | |
| | | CV (%) | 10,8 | 7,0 | | | |
| | hCG | Nombre total de résultats | 40 | 39 | | | |
| Médiane (UI/l - MoM) | | 38 604 | 1,45 | | | | |
| CV (%) | | 11,7 | 9,7 | | | | |
| hCGβ | Nombre total de résultats | 39 | 39 | | | | |
| | Médiane (UI/l - MoM) | 35,5 | 2,64 | | | | |
| | CV (%) | 4,8 | 6,2 | | | | |
| Estriol libre | Nombre total de résultats | 5 | 5 | | | | |
| | Médiane (nmol/l - MoM) | 3,9 | 1,14 | | | | |
| | CV (%) | 15,8 | 11,2 | | | | |
| 1T | PAPP-A | Nombre total de résultats | | | 85 | 85 | 85 |
| | | Médiane (nmol/l - MoM) | | | 2 290 | 0,74 | 4 082 |
| | | CV (%) | | | 27,8 | 23,0 | 22,8 |
| hCGβ | Nombre total de résultats | | | 84 | 84 | 83 | |
| | Médiane (nmol/l - MoM) | | | 94,1 | 2,26 | 36,8 | |
| | CV (%) | | | 7,1 | 13,1 | 7,5 | |

- 2T : deuxième trimestre
- 1T : premier trimestre
- * Les résultats en MoM des laboratoires d'outremer travaillant avec des médianes spécifiques sont exclus des calculs statistiques.

Méthode statistique et expression des résultats

Le calcul des résultats en Multiple de la Médiane (MoM) est effectué par le système analytique (automate, réactifs, logiciel) en divisant la valeur observée par la valeur de la médiane de référence préalablement définie pour un âge gestationnel donné. Une fois transformée en MoM, la valeur du marqueur ne devrait plus dépendre de l'âge gestationnel, ni du système analytique utilisé.

Le traitement statistique des données comporte plusieurs étapes :

- Elimination des valeurs aberrantes par la méthode de Tukey. Il s'agit d'une méthode non paramétrique qui permet de positionner chaque résultat en fonction des limites externes (LOF et UOF) calculées. Un résultat est considéré comme aberrant s'il est à l'extérieur des limites externes.
- Calcul de la valeur cible : vu le faible nombre de résultats, c'est la médiane, tous réactifs confondus ainsi que la médiane par réactif qui est utilisée. Cette dernière n'est calculée que si l'effectif est supérieur ou égal à 3.
- Calcul du paramètre statistique estimant la dispersion : un coefficient de variation non paramétrique (CV np) est calculé si l'effectif est supérieur à 3. Après avoir déterminé les quartiles P25 et P75, un écart-type non paramétrique (SD) est calculé selon la formule suivante (méthode de Tukey) : $SD = (P75 - P25) / 1,349$. Puis le CV np (SD / médiane) exprimé en % est calculé.

La comparaison des résultats est effectuée par les tests non paramétriques appropriés (test de Kruskal-Wallis, test U de Mann et Whitney). Les résultats sont significativement différents si $p < 0,05$.

Pour l'interprétation des résultats, une réponse consensus est définie comme étant la réponse exprimée par au moins 75% des laboratoires.

Pour les variables discrètes, la valeur modale (valeur la plus fréquemment rencontrée) est calculée.

Définition des échantillons

Les échantillons ont été préparés à partir du mélange, sans surcharge, de sérums de femmes enceintes prélevés pour dosage des marqueurs sériques maternels de la trisomie 21 au deuxième trimestre (13TA) ou au premier trimestre (13TB et 13TC). Les sérums constituant les pools ont été conservés congelés jusqu'au moment de l'envoi et répondent aux spécifications suivantes :

- Echantillon 13TA - utilisation de prélèvements de femmes entre 33 et 37 ans dont l'âge gestationnel est compris entre 16,0 et 16,9 semaines d'aménorrhée.
- Echantillons 13TB et 13TC - utilisation de prélèvements de femmes entre 33 et 37 ans dont l'âge gestationnel est compris entre 11,0 et 13,0 semaines d'aménorrhée.

Les échantillons ont été envoyés aux laboratoires sous forme liquide.

Avant l'envoi, l'expert F. Muller a contrôlé la reproductibilité et la bonne stabilité des échantillons après 5 jours à température ambiante, à 4°C et après un cycle de congélation / décongélation.

Les renseignements cliniques donnés sur le bordereau-réponse sont reportés dans le tableau II.

tableau II : Renseignements cliniques donnés lors des opérations 13T211 et 13T212.

| | 13T211 | | | 13T212 |
|-------------------------------|------------|------------|------------|------------|
| | 13TA-2T | 13TA-2TSI | 13TB-1T | 13TC-1T |
| Grossesse monofoetale | oui | oui | oui | oui |
| Tabac | non | oui | non | non |
| Date de naissance | 01/01/1978 | 01/01/1978 | 01/01/1978 | 02/12/1976 |
| Date de début de grossesse | 07/01/2013 | 07/01/2013 | - | - |
| Date échographie | - | 20/03/2013 | 15/04/2013 | 22/11/2013 |
| Longueur Cranio-Caudale (LCC) | - | 60 mm | 56 mm | 45 mm |
| Clarté Nucale (CN) | - | 2,0 mm | 2,0 mm | 1,8 mm |
| Date de prélèvement | 15/04/2013 | 15/04/2013 | 15/04/2013 | 02/12/2013 |
| Poids | 64 kg | 64 kg | 60 kg | 65 kg |

Les résultats des différents marqueurs ont conduit aux commentaires consensus suivants :

- 13T211 – 13TA-2T : interprétation non consensuelle pour le risque de trisomie 21 et
« la patiente n'appartient pas à un groupe à risque accru de non fermeture du tube neural..... »
- 13T211 – 13TA-2TSI : interprétation non consensuelle pour le risque de trisomie 21 et
« la patiente n'appartient pas à un groupe à risque accru de non fermeture du tube neural..... »
- 13T211 – 13TB-1T : « la patiente appartient à un groupe à risque accru de trisomie 21 »
- 13T212 – 13TC-1T : « la patiente n'appartient pas à un groupe à risque accru de trisomie 21 »

Réception des échantillons

L'envoi et la réception des échantillons se sont dans l'ensemble bien déroulés. La très grande majorité des laboratoires participants (13T211 : 98,8% et 13T212 : 96,5%) ont reçu l'échantillon en moins de 72 heures. Un incident de livraison a été signalé lors de l'opération 13T211.

Les résultats des laboratoires ayant reçu les échantillons plus tardivement, s'ils ont été affectés, ont été exclus de l'analyse statistique.

13T211

Echantillon 13TA - dépistage deuxième trimestre (2T) et dépistage deuxième trimestre séquentiel intégré (2TSI)

Choix des marqueurs

Les marqueurs utilisés sont détaillés dans le tableau III. Rappelons que deux marqueurs au moins doivent être dosés, dont l'hCG ou l'hCG β et l'AFP ou l'estriol libre.

tableau III : Marqueurs sériques maternels utilisés pour le dépistage de la trisomie 21 deuxième trimestre en 2013.

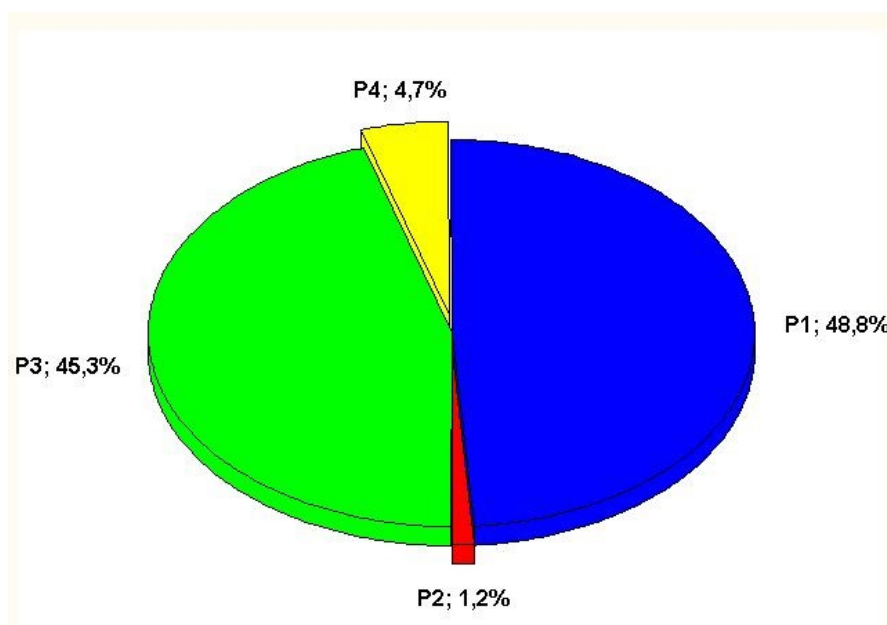
| Marqueurs sériques | Nombre (%) d'utilisateurs |
|--------------------|---------------------------|
| | 13T211 – 13TA |
| AFP | 86 (100%) |
| hCG | 43 (50%) |
| hCG β | 42 (48%) |
| Estriol libre | 5 (6%) |

Quatre combinaisons sont réalisées (figure 1 et tableau IV) : les doubles tests (hCG + AFP ou hCG β + AFP) et les triples tests (hCG + AFP + estriol libre ou hCG β + AFP + estriol libre). Le double test hCG + AFP prédomine avec presque la moitié des participants ayant choisi cette combinaison en 2013.

tableau IV : Combinaisons utilisées pour le dépistage de la trisomie 21 deuxième trimestre en 2013.

| Code | Paramètres dosés | 13T211 – 13TA |
|------|----------------------------------|-----------------------|
| | | Nombre d'utilisateurs |
| P1 | AFP, hCG | 42 |
| P2 | AFP, hCG, estriol libre | 1 |
| P3 | AFP, hCG β | 39 |
| P4 | AFP, hCG β , estriol libre | 4 |

figure 1 : Combinaisons utilisées pour le dépistage de la trisomie 21 deuxième trimestre lors de l'opération 13T211.



Réactifs utilisés pour le dépistage 2T

Conformément à la réglementation, les laboratoires participants travaillent tous en système homogène : pour le dosage des marqueurs sériques et le calcul du risque, l'automate choisi est utilisé avec les réactifs provenant du même industriel et la (les) version (s) logiciel(s) associée(s).

Cinq systèmes « réactifs/automates » ont été utilisés lors des opérations 13T211 (tableau V). La répartition entre les différents systèmes est assez homogène.

Les dosages de l'AFP et de l'hCG ont été réalisés respectivement avec 5 et 4 réactifs différents. Seuls 3 réactifs ont été utilisés pour doser l'hCG β (Kryptor, THERMOFISHER, DELFIA et DELFIA Dual, PERKIN ELMER) et un seul réactif a été utilisé pour doser l'estriol libre (DELFIA, PERKIN ELMER).

L'AFP étant dosée par tous les laboratoires, quelle que soit la combinaison utilisée, la répartition des réactifs utilisés pour le dosage de l'AFP est présentée sur la figure 2.

figure 2 : Répartition des réactifs utilisés pour le dépistage T21 deuxième trimestre lors de l'opération 13T211 pour le dosage de l'AFP.

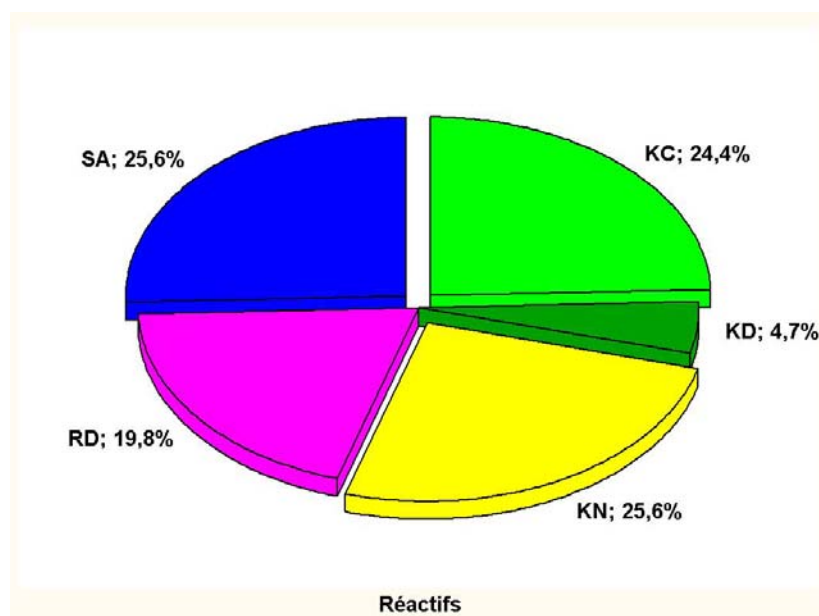


tableau V – Réactifs utilisés pour le dépistage T21 deuxième trimestre lors de l'opération 13T211 pour le dosage de l'AFP.

| Code | réactifs, distributeurs | Nombre d'utilisateurs |
|------|---|-----------------------|
| | | 13T211 – 13TA |
| KC | AutoDELFINA AFP , PERKIN ELMER | 21 |
| KD | AutoDELFINA AFP/ β -hCG dual , PERKIN ELMER | 4 |
| KN | Kryptor AFP, THERMOFISHER | 22 |
| RD | Cobas AFP, ROCHE DIAGNOSTIC | 17 |
| SA | Immulite AFP, SIEMENS | 22 |

Résultats des participants – dépistage 2T

1– AFP

Les résultats concernant le dosage de l'AFP sont donnés dans les tableaux VI et VII. Le dosage de l'AFP est effectué par 86 laboratoires. Un résultat en MoM a été exclu des calculs statistiques (laboratoire d'outremer travaillant avec des médianes spécifiques). La dispersion inter-laboratoires intra-réactif est acceptable pour les résultats rendus en kUI/l avec des CVnp compris entre 2,3 et 7,0%. Après transformation des résultats en MoM, les CVnp sont du même ordre, compris entre 1,8 et 8,0%.

Les figures 3 et 4 illustrent les résultats individuels en fonction de la trousse utilisée. L'écart de résultat entre les différentes trouses est faible avec des résultats médians variant de 21,3 à 25,5 kUI/l. C'est la trousse Kryptor THERMOFISHER [KN] qui donne les résultats les plus hauts. L'écart entre la médiane de la trousse donnant les résultats les plus hauts et la médiane de la trousse donnant les résultats les plus bas, trousse AutoDelfia PERKIN ELMER [KC], est modéré (17,1%) ; cependant, les résultats diffèrent significativement selon la trousse utilisée (test de Kruskal-Wallis, $p < 0,005$). Après transformation des résultats en MoM, l'écart de résultat entre les différentes trouses est moindre (13,9%) avec des résultats médians variant entre 0,74 et 0,85. Les résultats exprimés en MoM demeurent réactif-dépendants, ils diffèrent significativement selon la trousse utilisée (test de Kruskal-Wallis, $p < 0,005$).

tableau VI : Résultats obtenus pour l'AFP (résultats exprimés en kUI/l) lors de l'opération 13T211.

| Réactifs | Code | N | Mediane | R (%) | CVnp (%) |
|---------------------------------|------|----|---------|-------|----------|
| toutes techniques | | 86 | 24,30 | 100,0 | 10,75 |
| Auto Delfia /Delfia Xpress AFP | KC | 21 | 21,30 | 87,7 | 6,96 |
| Auto Delfia hAFP/Free BhCG dual | KD | 4 | 24,70 | 101,6 | 3,90 |
| Kryptor AFP | KN | 22 | 25,45 | 104,7 | 2,26 |
| Cobas AFP | RD | 17 | 25,20 | 103,7 | 6,03 |
| Immulite 2000 AFP | SA | 22 | 22,75 | 93,6 | 6,84 |

tableau VII : Résultats obtenus pour l'AFP (résultats exprimés en MoM) lors de l'opération 13T211.

| Réactifs | Code | N | Mediane | R (%) | CVnp (%) |
|---------------------------------|------|----|---------|-------|----------|
| toutes techniques | | 85 | 0,79 | 100,0 | 7,04 |
| Auto Delfia /Delfia Xpress AFP | KC | 21 | 0,79 | 100,0 | 7,98 |
| Auto Delfia hAFP/Free BhCG dual | KD | 4 | 0,84 | 106,3 | 1,76 |
| Kryptor AFP | KN | 22 | 0,78 | 98,7 | 2,14 |
| Cobas AFP | RD | 17 | 0,85 | 107,6 | 5,67 |
| Immulite 2000 AFP | SA | 21 | 0,74 | 93,7 | 6,51 |

N : nombre de résultats.

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

CVnp : coefficient de variation non paramétrique calculé à partir de la médiane.

figure 3 : Résultats individuels obtenus pour l'AFP (kUI/l) lors de l'opération 13T211.

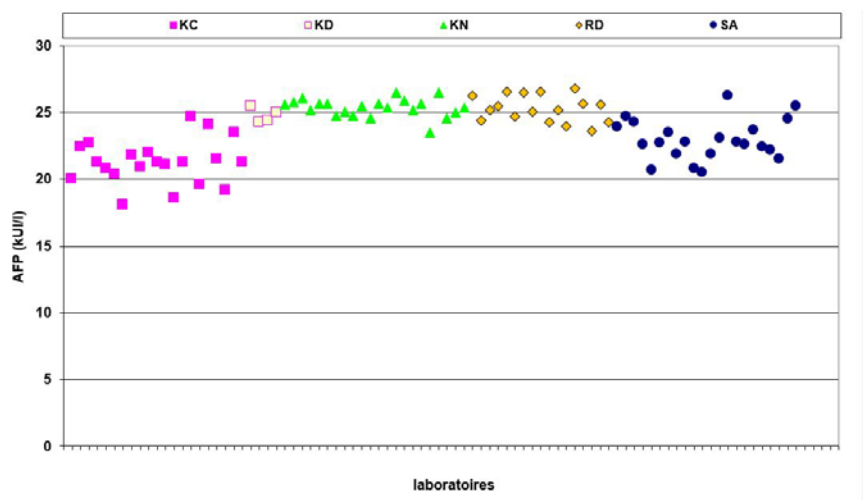
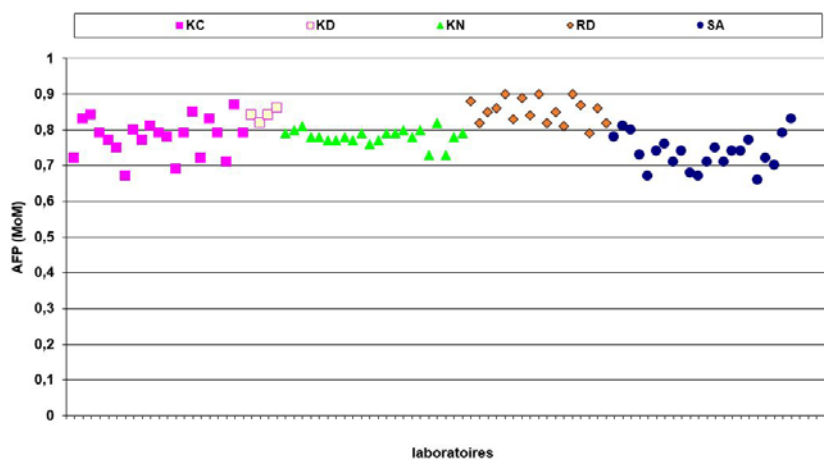


figure 4 : Résultats individuels obtenus pour l'AFP (MoM) lors de l'opération 13T211.



| | |
|------|--|
| Code | trousse, distributeur |
| KC | AutoDELFIA AFP, PERKIN ELMER |
| KD | AutoDELFIA Dual AFP/ β -hCG dual, PERKIN ELMER |
| KN | Kryptor AFP, THERMOFISHER |
| RD | Cobas AFP, ROCHE DIAGNOSTIC |
| SA | Immulite AFP, SIEMENS |

2- hCG

Le dosage de l'hCG a été effectué par 43 laboratoires soit 50% des participants. Les résultats concernant le dosage de l'hCG sont donnés dans les tableaux VIII et IX.

Trois laboratoires utilisant le réactif Cobas ROCHE [RD] ont rendus des résultats franchement inférieurs à ceux trouvés toutes techniques (médiane : 38 604 UI/L). De nombreuses investigations ont été menées auprès des trois utilisateurs et de l'industriel sans pouvoir clairement comprendre l'origine de cette discordance sans lien avec le type d'automate, de lots de réactif ou de calibrateur. Le problème est apparu comme ponctuel et sans conséquence sur les résultats des patientes.

Ces résultats ont été exclus des calculs statistiques et non évalués.

La trousse la plus utilisée est la trousse Immulite SIEMENS [SA]. La dispersion inter-laboratoires intra-réactif des résultats rendus en UI/l est acceptable, avec des CVnp inférieur à 10% (tableau VIII). Après transformation des résultats en MoM, les CVnp sont du même ordre.

Les figures 5 et 6 illustrent les résultats individuels obtenus en fonction de la trousse utilisée. L'écart entre la médiane de la trousse donnant les résultats les plus hauts (Kryptor THERMOFISHER [KN]) et celle donnant les résultats les plus bas (Cobas ROCHE [RD]) est de 11,6%. Les résultats diffèrent significativement selon la trousse utilisée (test de Kruskal-Wallis, $p < 0,005$). Après conversion en MoM, l'écart entre la médiane de la trousse donnant les résultats les plus hauts (Kryptor THERMOFISHER [KN]) et celle donnant les résultats les plus bas (AutoDelfia PERKIN ELMER [KC]) est de 11,4%. Toutefois, aucune différence significative n'est notée.

tableau VIII : Résultats obtenus pour l'hCG (résultats exprimés en UI/l) lors de l'opération 13T211.

| Réactifs | Code | N | Mediane | R (%) | CVnp (%) |
|-------------------|------|----|---------|-------|----------|
| toutes techniques | | 40 | 38604,0 | 100,0 | 11,71 |
| Auto Delfia hCG | KC | 2 | 38614,0 | 100,0 | N.C. |
| Kryptor hCG | KN | 3 | 40380,0 | 104,6 | N.C. |
| Cobas hCG | RD | 14 | 35910,5 | 93,0 | 9,06 |
| Immulite 2000 hCG | SA | 21 | 39779,0 | 103,0 | 9,65 |

tableau IX : Résultats obtenus pour l'hCG (résultats exprimés en MoM) lors de l'opération 13T211.

| Réactifs | Code | N | Mediane | R (%) | CVnp (%) |
|-------------------|------|----|---------|-------|----------|
| toutes techniques | | 39 | 1,45 | 100,0 | 9,71 |
| Auto Delfia hCG | KC | 2 | 1,42 | 97,9 | N.C. |
| Kryptor hCG | KN | 3 | 1,59 | 109,3 | N.C. |
| Cobas hCG | RD | 14 | 1,50 | 103,1 | 8,93 |
| Immulite 2000 hCG | SA | 21 | 1,43 | 98,6 | 9,59 |

N : nombre de résultats.

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

CVnp : coefficient de variation non paramétrique calculé à partir de la médiane.

NC : non calculé

figure 5 : Résultats individuels obtenus pour l'hCG (UI/l) lors de l'opération 13T211.

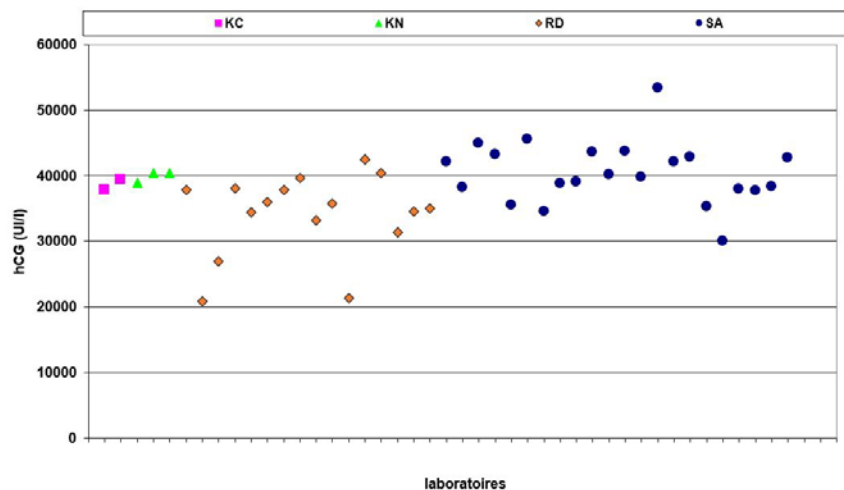
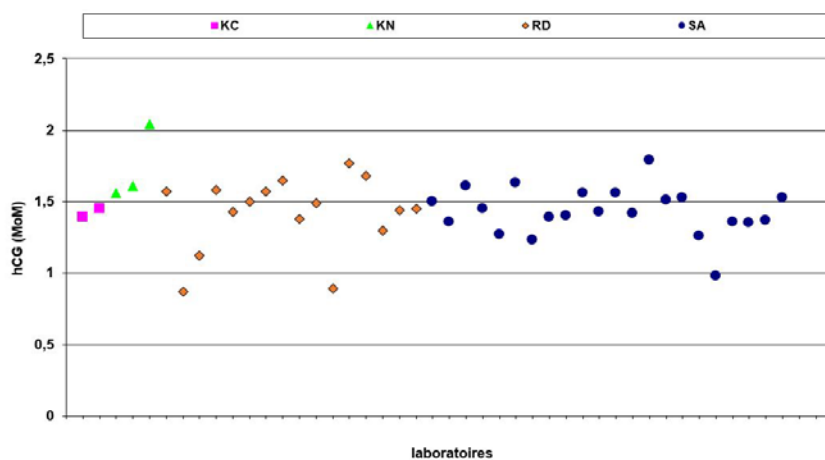


figure 6 : Résultats individuels obtenus pour l'hCG (MoM) lors de l'opération 13T211.



| Code | trousse, distributeur |
|------|-------------------------------|
| KC | AutoDELFLIA hCG, PERKIN ELMER |
| KN | Kryptor hCG, THERMOFISHER |
| RD | Cobas hCG, ROCHE DIAGNOSTIC |
| SA | Immulite hCG, SIEMENS |

3 - hCG β

Le dosage de l'hCG β a été effectué par 42 laboratoires soit 48,8% des participants. Les résultats concernant le dosage de l'hCG β sont donnés dans les tableaux X et XI. Trois résultats en UI/l et en MoM ont été exclus des calculs statistiques.

La dispersion inter-laboratoires intra-réactif des résultats exprimés en valeur brute ou en MoM est correcte, avec des CVnp compris entre 3,2 et 7,2% d'une part et 7,2% et 9,9% d'autre part.

Certains laboratoires ont tenu compte à tort d'un facteur tabac pour la transformation des résultats en MoM ce qui accroît la dispersion inter-laboratoires intra-réactif

Les figures 7 et 8 illustrent les résultats individuels obtenus en fonction de la trousse utilisée. Lorsque les résultats sont exprimés en UI/l ou en MoM, aucune différence significative n'est notée. Pour les résultats exprimés en unités, l'écart entre la médiane des trouses est de 2,8% et de 2,9% pour les résultats exprimés en MoM.

A noter suite à une erreur du laboratoire, un résultat d'hCG total a été rentré dans les cases réservées à la saisie de l'hCG β . Il a été exclu des calculs statistiques.

tableau X : Résultats obtenus pour l'hCG β (résultats exprimés en UI/l) lors de l'opération 13T211.

| Réactifs | Code | N | Médiane | R (%) | CVnp (%) |
|---------------------------------------|------|----|---------|-------|----------|
| toutes techniques | | 39 | 35,50 | 100,0 | 4,80 |
| Auto Delfia/ Delfia Xpress BhCG libre | KC | 17 | 35,20 | 99,2 | 7,16 |
| Auto Delfia hAFP/Free BhCG dual | KD | 4 | 35,05 | 98,7 | 3,17 |
| Kryptor BhCG libre | KN | 18 | 36,05 | 101,5 | 4,16 |

tableau XI : Résultats obtenus pour l'hCG β (résultats exprimés en MoM) lors de l'opération 13T211.

| Réactifs | Code | N | Médiane | R (%) | CVnp (%) |
|---------------------------------------|------|----|---------|-------|----------|
| toutes techniques | | 39 | 2,64 | 100,0 | 6,18 |
| Auto Delfia/ Delfia Xpress BhCG libre | KC | 17 | 2,64 | 100,0 | 7,16 |
| Auto Delfia hAFP/Free BhCG dual | KD | 4 | 2,57 | 97,5 | 7,48 |
| Kryptor BhCG libre | KN | 18 | 2,65 | 100,4 | 9,93 |

N : nombre de résultats.

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

CVnp : coefficient de variation non paramétrique calculé à partir de la médiane.

figure 7 : Résultats individuels obtenus pour l'hCG β (UI/l) lors de l'opération 13T211.

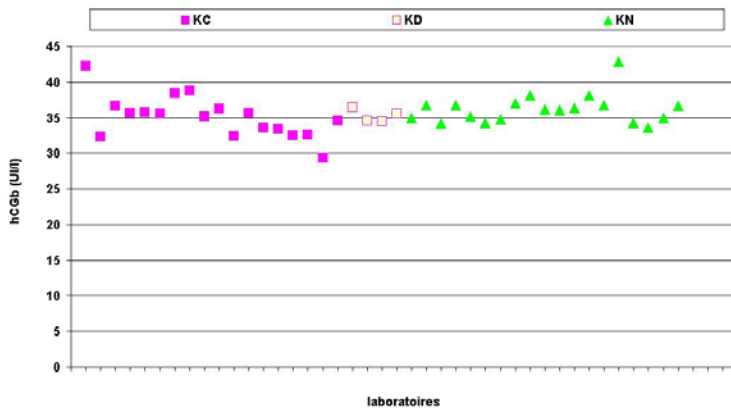
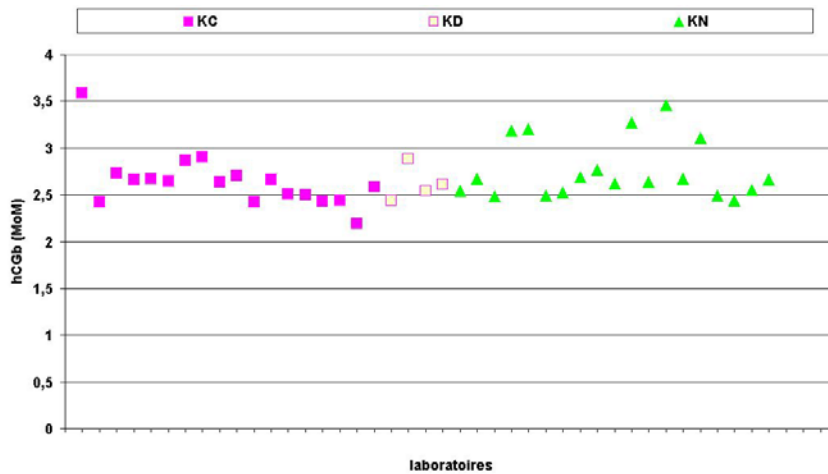


figure 8 : Résultats individuels obtenus pour l'hCGβ (MoM) lors de l'opération 13T211.



| | |
|------|--|
| Code | trousse, distributeur |
| KC | AutoDELFIA hCGβ, PERKIN ELMER |
| KD | AutoDELFIA Dual AFP/β-hCG dual, PERKIN ELMER |
| KN | Kryptor hCGβ, THERMOFISHER |

4- Estriol libre

Le dosage de l'estriol libre a été effectué par 5 laboratoires soit 5,8% des participants. Les résultats concernant le dosage de l'estriol libre sont donnés dans le tableau XII. Une seule trousse est utilisée, la trousse Auto Delfia PERKIN [KC]. La dispersion inter-laboratoire des résultats bruts est importante (CVnp : 15,8%). Après transformation des résultats en MoM, la dispersion (CVnp : 11,2%) est similaire.

tableau XII : Résultats obtenus pour l'estriol libre (résultats exprimés en nmol/l et en MoM).

| Réactifs | Code | N | Médiane | CVnp (%) |
|---|------|---------------------|---------|----------|
| Auto Delfia/Delfia Xpress uE3 PERKIN ELMER | KC | Résultats en nmol/l | | |
| | | 5 | 3,9 | 15,8 |
| | | Résultats en MoM | | |
| | | 5 | 1,14 | 11,2 |

N: nombre de résultats

CVnp : coefficient de variation non paramétrique calculé à partir de la médiane.

5- Calcul du risque de trisomie 2T et interprétation des résultats

Lors de l'opération 13T211, le risque calculé médian « tous systèmes analytiques » confondus est de 1/134.

Concernant le risque de défaut de fermeture du tube neural, tous les laboratoires ont trouvé une AFP inférieure à 2,5 MoM et ont conclu « la patiente n'appartient pas à un groupe à risque accru de défaut de fermeture du tube neural » (seuil consensuel de 2,5 MoM acté lors du congrès de médecine fœtale, Morzine 2005).

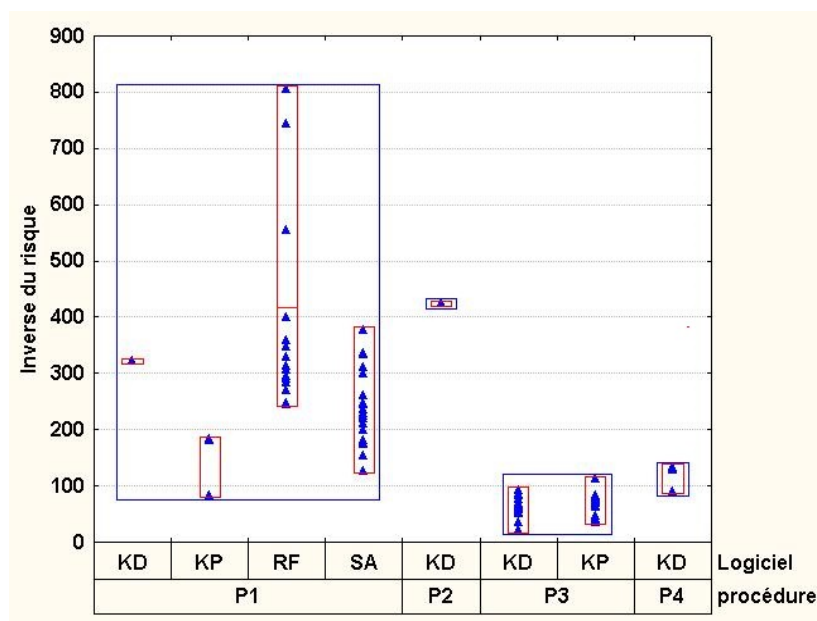
Concernant le dépistage de trisomie 21, soixante-deux laboratoires calculent un risque supérieur à 1/250 et concluent « la patiente appartient à un groupe à risque accru de trisomie 21 ». Vingt-trois laboratoires calculent un risque inférieur à 1/250 et concluent logiquement l'inverse à savoir « la patiente n'appartient pas à un groupe à risque accru de trisomie 21 ». Parmi eux, 15 sont des utilisateurs de la technologie Roche, 6 des utilisateurs de la technologie Siemens et 2 des utilisateurs de la technologie Perkin-Elmer (tableau XIII).

La procédure utilisée influe sur la conclusion donnée (figure 9). En effet, le risque calculé par les laboratoires dosant l'hCG β et l'AFP est plus fort que celui calculé par les laboratoires dosant l'hCG et l'AFP (différence significative), ce qui est sans doute lié à la fabrication de l'échantillon (modification de l'équilibre hCG – fraction β -libre). Ceci explique une grande partie de la dispersion importante observée pour le calcul de risque lors de cette opération. Cette dispersion est également due aux trois résultats aberrants d'hCG, ainsi qu'à l'utilisation de données cliniques erronées comme la prise en compte inappropriée du facteur tabac.

tableau XIII : Risques calculés médians selon les procédures et les systèmes de dosage utilisés lors de l'opération 13T211.

| Echantillon | Procédure | Logiciel, Distributeur | Risque calculé médian |
|-----------------------------------|---------------------------|-----------------------------------|-----------------------|
| 13TA | AFP, hCG | AutoDELFIA, PERKIN ELMER | 1/322 |
| | | Kryptor version 1.5, THERMOFISHER | 1/180 |
| | | Cobas, ROCHE DIAGNOSTIC | 1/310 |
| | | Immulate, SIEMENS | 1/232 |
| | AFP, hCG et estriol libre | AutoDELFIA, PERKIN ELMER | 1/424 |
| | AFP et hCG β | AutoDELFIA, PERKIN ELMER | 1/65 |
| | | Kryptor version 1.5, THERMOFISHER | 1/70 |
| AFP, hCG β et estriol libre | AutoDELFIA, PERKIN ELMER | 1/129 | |

figure 9 : Résultats individuels obtenus pour l'inverse du risque calculé dépistage deuxième trimestre lors de l'opération 13T211 en fonction de la procédure et du logiciel de calcul utilisé. Les boîtes représentent la dispersion intra-procédure et la dispersion intra-logiciel. Les triangles représentent les résultats individuels.



Les 3 laboratoires utilisant le réactif Cobas Roche et ayant rendus des résultats d'hCG particulièrement bas et qui ont fait l'objet d'une étude complémentaire, ont calculé des risques particulièrement faibles (<1/400). Ces 3 valeurs ont été exclues des calculs statistiques mais sont indiqués sur la figure ci-dessus.

| Code Procédure | Paramètres dosés | Code logiciel | Logiciels, Distributeurs |
|----------------|----------------------------------|---------------|--|
| P1 | AFP, hCG | KD | Lifecycle version 3.2, PERKIN ELMER |
| P2 | AFP, hCG, estriol libre | KP | Fast screen pre I plus version 1.5, THERMOFISHER |
| P3 | AFP, hCG β | RF | Santosha / Ssdw Lab version 5 et 6, ROCHE DIAGNOSTIC |
| P4 | AFP, hCG β , estriol libre | SA | Prisca (version 4), SIEMENS |

Résultats des participants – dépistage séquentiel intégré 2^e trimestre (2TSI)

Les résultats biologiques bruts obtenus avec l'échantillon 13TA devaient également être utilisés, combinés aux renseignements échographiques fournis (Clarté nucale et Longueur Cranio Caudale), pour effectuer un calcul de risque dans le cadre du dépistage séquentiel intégré du 2^e trimestre.

Un laboratoire ne réalisait pas le dépistage séquentiel intégré deuxième trimestre.

1- Clarté nucale

Le calcul des MoM de clarté nucale a été réalisé par 84 laboratoires. Les résultats concernant le calcul des MoM de la clarté nucale sont donnés dans le tableau XIV. La valeur modale qui est la valeur la plus fréquemment notée varie selon le logiciel entre 1,28 et 1,40 MoM.

tableau XIV : Clarté nucale exprimée en MoM, valeurs modales obtenues lors de l'opération 13T211 pour l'échantillon 13TA.

| code | logiciels | Valeur modale (MoM) |
|------|--|---------------------|
| - | Tous logiciels | 1,28 |
| KD | Life cycle version 3.2, PERKIN ELMER | 1,30 |
| KP | Fast screen pre I plus version 1.5, THERMOFISHER | 1,40 |
| RF | Santosha / Ssdw Lab version 5 et 6, ROCHE DIAGNOSTIC | 1,28 |
| SA | Prisca (version 4), SIEMENS | 1,28 |

2- AFP

Les résultats concernant le calcul des MoM de l'AFP sont donnés dans le tableau XV.

Quatre vingt cinq laboratoires ont rendu un résultat.

Les MoM calculés dans le cadre du dépistage séquentiel intégré diffèrent légèrement de ceux calculés dans le cadre du dépistage du deuxième trimestre (tableau VII) car l'âge gestationnel calculé à partir des données échographiques (LCC) ou à partir de la Date de Début de Grossesse (DDG) n'est pas exactement le même.

L'écart maximal entre les résultats médians obtenus par la technique rendant les résultats les plus élevés et celle donnant les résultats les plus faibles est de 14,3%, du même ordre que l'écart observé pour les MoM dépistage 2^e trimestre (13,0% versus 13,9%).

tableau XV : 2TSI - Résultats obtenus pour l'AFP (résultats exprimés en MoM) lors de l'opération 13T211.

| Réactifs | Code | N | Mediane | R (%) | CVnp (%) |
|---------------------------------|------|----|---------|-------|----------|
| toutes techniques | | 85 | 0,77 | 100,0 | 7,22 |
| Auto Delfia /Delfia Xpress AFP | KC | 21 | 0,76 | 98,7 | 6,83 |
| Auto Delfia hAFP/Free BhCG dual | KD | 4 | 0,82 | 106,5 | 1,36 |
| Kryptor AFP | KN | 22 | 0,76 | 98,7 | 2,19 |
| Cobas AFP | RD | 17 | 0,83 | 107,8 | 5,81 |
| Immulite 2000 AFP | SA | 21 | 0,72 | 93,5 | 7,21 |

3- hCG

Les résultats concernant le calcul des MoM de l'hCG sont donnés dans le tableau XVI.

Quarante deux laboratoires ont rendu un résultat. Cinq résultats ont été exclus des calculs statistiques (laboratoires d'outremer travaillant avec des médianes spécifiques, résultats « aberrants » Roche).

L'écart maximal entre les résultats médians obtenus par les techniques rendant les résultats les plus élevés et celle donnant les résultats les plus faibles est de 13,6%, peu différent de l'écart observé pour les MoM dépistage 2^e trimestre (13,6 % versus 11,4%).

tableau XVI : 2TSI - Résultats obtenus pour l'hCG (résultats exprimés en MoM) lors de l'opération 13T211.

| Réactifs | Code | N | Mediane | R (%) | CVnp (%) |
|-------------------|------|----|---------|-------|----------|
| toutes techniques | | 37 | 1,84 | 100,0 | 10,47 |
| Auto Delfia hCG | KC | 2 | 1,80 | 97,8 | N.C. |
| Kryptor hCG | KN | 3 | 2,03 | 110,3 | N.C. |
| Cobas hCG | RD | 12 | 1,99 | 108,2 | 9,41 |
| Immulite 2000 hCG | SA | 20 | 1,78 | 96,7 | 7,70 |

N.C. : Non Calculé

4- hCG β

Les résultats concernant le calcul des MoM de l'hCG β sont donnés dans le tableau XVII. Quarante et un laboratoires ont rendu un résultat. Un résultat a été exclu des calculs statistiques.

L'écart maximal entre les résultats médians obtenus par la technique rendant les résultats les plus élevés et celle donnant les résultats les plus faibles est de 12,6%, plus important que l'écart observé pour les MoM dépistage 2^e trimestre (12,6 % versus 3,2%).

tableau XVII : 2TSI - Résultats obtenus pour l'hCG β (résultats exprimés en MoM) lors de l'opération 13T211.

| Réactifs | Code | N | Mediane | R (%) | CVnp (%) |
|---------------------------------------|------|----|---------|-------|----------|
| toutes techniques | | 40 | 3,11 | 100,0 | 9,67 |
| Auto Delfia/ Delfia Xpress BhCG libre | KC | 18 | 3,00 | 96,6 | 8,15 |
| Auto Delfia hAFP/Free BhCG dual | KD | 4 | 2,89 | 92,9 | 2,44 |
| Kryptor BhCG libre | KN | 18 | 3,28 | 105,5 | 4,41 |

5- Estriol libre

Dans le cadre du dépistage séquentiel intégré 2^e trimestre le calcul des MoM d'estriol libre a été réalisé par 5 laboratoires (tableau XVIII).

tableau XVIII : 2TSI - Résultats obtenus pour l'estriol libre (résultats exprimés en MoM) lors de l'opération 13T211.

| Réactifs | Code | N | Médiane | CVnp (%) |
|--|------|---|---------|----------|
| Auto Delfia/Delfia Xpress uE3 PERKIN ELMER | KC | 5 | 1,18 | 8,2 |

6- Calcul du risque de trisomie séquentiel intégré 2^e trimestre et interprétation des résultats

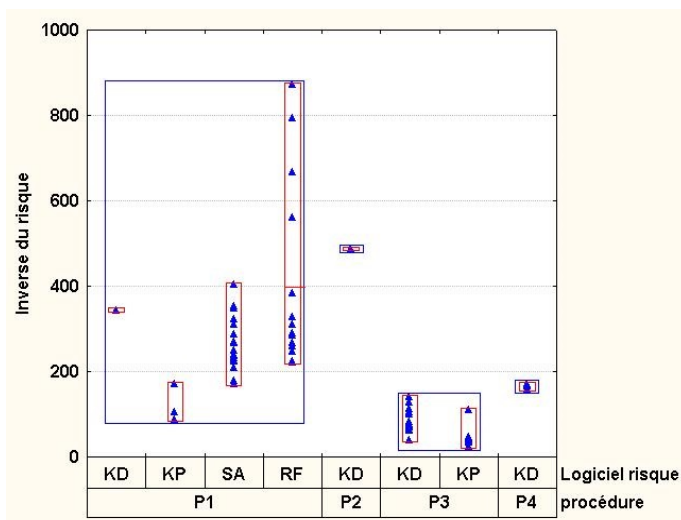
Lors de l'opération 13T211, le risque calculé médian « tous systèmes analytiques » confondus est de 1/162, Cinquante-neuf laboratoires calculent un risque supérieur à 1/250 et concluent « la patiente appartient à un groupe à risque accru de trisomie 21 ». Vingt-cinq laboratoires calculent un risque inférieur à 1/250 et concluent logiquement l'inverse à savoir « la patiente n'appartient pas à un groupe à risque accru de trisomie 21 » (tableau XIX et figure 10).

Comme pour le dépistage 2T, les variations observées sur le calcul de risque sont clairement associées à la procédure utilisée. En effet, le risque calculé par les laboratoires dosant l'hCG β et l'AFP est plus fort que celui calculé par les laboratoires dosant l'hCG et l'AFP en lien avec un déplacement de l'équilibre hCG – fraction β -libre.

tableau XIX : Risques calculés médians selon les procédures et les systèmes de dosage utilisés lors de l'opération 13T211

| Echantillon | Procédure | Logiciel, Distributeur | Risque calculé médian |
|-----------------------------------|---------------------------|-----------------------------------|-----------------------|
| 13TA | AFP, hCG | AutoDELFLIA, PERKIN ELMER | 1/344 |
| | | Kryptor version 1.5, THERMOFISHER | 1/106 |
| | | Cobas, ROCHE DIAGNOSTIC | 1/280 |
| | | Immulate, SIEMENS | 1/243 |
| | AFP, hCG et estriol libre | AutoDELFLIA, PERKIN ELMER | 1/487 |
| | AFP et hCG β | AutoDELFLIA, PERKIN ELMER | 1/76 |
| | | Kryptor version 1.5, THERMOFISHER | 1/40 |
| AFP, hCG β et estriol libre | AutoDELFLIA, PERKIN ELMER | 1/167 | |

figure 10 : Résultats individuels obtenus pour l'inverse du risque calculé dépistage séquentiel intégré 2^e trimestre lors de l'opération 13T211 en fonction de la procédure et du logiciel de calcul utilisé. Les boîtes représentent la dispersion intra-procédure et la dispersion intra-logiciel. Les triangles représentent les résultats individuels.



Les 3 laboratoires utilisant le réactif Cobas Roche et ayant rendu des résultats d'hCG particulièrement bas et qui ont fait l'objet d'une étude complémentaire, ont calculé des risques particulièrement faibles (<1/400). Ces 3 valeurs ont été exclues des calculs statistiques mais sont indiqués sur la figure ci-dessus.

| Code Procédure | Paramètres dosés | Code logiciel | Logiciels, Distributeurs |
|----------------|----------------------------------|---------------|--|
| P1 | AFP, hCG | KD | Lifecycle version 3.2, PERKIN ELMER |
| P2 | AFP, hCG, estriol libre | KP | Fast screen pre I plus version 1.5, THERMOFISHER |
| P3 | AFP, hCG β | RF | Santosha / Ssdw Lab version 5, ROCHE DIAGNOSTIC |
| P4 | AFP, hCG β , estriol libre | SA | Prisca (version 4), SIEMENS |

Echantillon 13TB – dépistage premier trimestre

Quatre-vingt-quatre laboratoires ont rendu des résultats.
Un laboratoire ne réalisait pas le dépistage premier trimestre.

Réactifs utilisés pour le dépistage premier trimestre

Conformément à la réglementation, les laboratoires participants travaillent tous en système homogène : pour le dosage des marqueurs sériques et le calcul du risque, l'automate choisi est utilisé avec les réactifs provenant du même industriel et le logiciel associé.

Quatre systèmes « réactifs/automates » ont été utilisés lors des opérations 13T211 (tableau XX et figure 11). La répartition entre les différents systèmes est assez homogène.

figure 11 : Répartition des réactifs utilisés pour le dépistage T21 premier trimestre lors de l'opération 13T211.

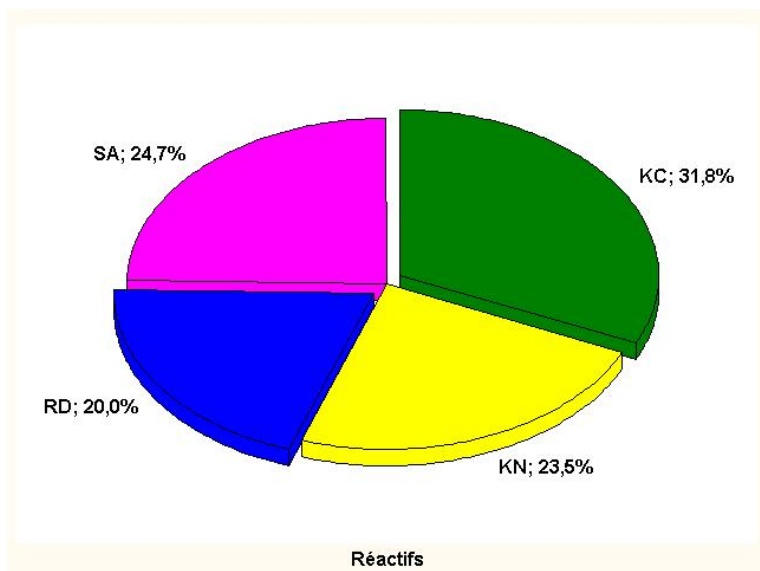


tableau XX – Réactifs utilisés pour le dépistage T21 premier trimestre lors de l'opération 13T211.

| Code | réactifs, distributeurs | Nombre d'utilisateurs |
|------|---------------------------|-----------------------|
| | | 13T211 – 13TB |
| KC | AutoDELFLIA, PERKIN ELMER | 27 |
| KN | Kryptor, THERMOFISHER | 20 |
| RD | Cobas, ROCHE DIAGNOSTIC | 17 |
| SA | Immulite , SIEMENS | 21 |

Résultats des participants

1- Clarté nucale

Le calcul des MoM de clarté nucale a été réalisé par 85 laboratoires. Les résultats concernant le calcul des MoM de CN sont donnés dans le tableau XXI. La valeur modale varie entre 1,35 et 1,47 MoM.

Il est à noter que la base de données CN de la version 1.5 du logiciel Kryptor THERMOFISHER a été incrémentée par un grand nombre de nouveaux cas modifiant le calcul des MoM par rapport à l'ancienne version.

tableau XXI : Clarté nucale exprimée en MoM, valeurs modales obtenues lors de l'opération 13T211 pour l'échantillon 13TB.

| code | logiciels | Valeur modale (MoM) |
|------|--|---------------------|
| - | Tous logiciels | 1,35 |
| KD | Life cycle version 3.2 PERKIN ELMER | 1,37 |
| KP | Fast screen pre I plus version 1.5, THERMOFISHER | 1,47 |
| RF | Ssdw Lab version 5 et 6, ROCHE DIAGNOSTIC | 1,35 |

2- hCG β

Les résultats concernant le dosage de l'hCG β sont donnés dans les tableaux XXII et XXIII. Aucun résultat (en UI/l ou en MoM) n'a été exclu des calculs statistiques.

La dispersion inter-laboratoires intra-réactif est tout à fait correcte, avec pour les résultats rendus en UI/l, des CVnp compris entre 3,8 et 7,7%. Des résultats équivalents sont obtenus après transformation des résultats en MoM.

Les figures 12 et 13 illustrent les résultats individuels en fonction de la trousse de réactif utilisée. Les résultats exprimés en UI/l diffèrent significativement selon la trousse utilisée (test de Kruskal-Wallis, $p < 0,001$). L'écart entre la médiane de la trousse donnant les résultats les plus hauts (trousse Immulite SIEMENS [SA]) et la médiane de la trousse donnant les résultats les plus bas (trousse Cobas ROCHE [RD]) est de 12,7%.

Après transformation des résultats en MoM, les résultats demeurent réactif-dépendants et l'écart entre la médiane des trouses donnant les résultats les plus hauts (trousse Cobas ROCHE [RD]) et la médiane de la trousse donnant les résultats les plus bas (trousse Kryptor THERMOFISHER [KN]) est accru (26,1% versus 12,7%).

tableau XXII : Résultats obtenus pour l'hCG β (résultats exprimés en UI/l) lors de l'opération 13T211

| Réactifs | Code | N | Mediane | R (%) | CVnp (%) |
|---------------------------------------|------|----|---------|-------|----------|
| toutes techniques | | 84 | 94,05 | 100,0 | 7,05 |
| Auto Delfia/ Delfia Xpress BhCG libre | KC | 26 | 95,45 | 101,5 | 4,31 |
| Kryptor BhCG libre | KN | 20 | 94,30 | 100,3 | 4,85 |
| Cobas hCGB | RD | 17 | 86,90 | 92,4 | 3,80 |
| Immulite 2000 BhCG libre | SA | 21 | 98,80 | 105,1 | 7,69 |

tableau XXIII : Résultats obtenus pour l'hCG β (résultats exprimés en MoM) lors de l'opération 13T211

| Réactifs | Code | N | Mediane | R (%) | CVnp (%) |
|---------------------------------------|------|----|---------|-------|----------|
| toutes techniques | | 84 | 2,26 | 100,0 | 13,09 |
| Auto Delfia/ Delfia Xpress BhCG libre | KC | 26 | 2,22 | 98,0 | 5,59 |
| Kryptor BhCG libre | KN | 20 | 2,02 | 89,2 | 4,59 |
| Cobas hCGB | RD | 17 | 2,61 | 115,2 | 3,83 |
| Immulite 2000 BhCG libre | SA | 21 | 2,35 | 103,8 | 6,78 |

N : nombre de résultats.

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

CVnp : coefficient de variation non paramétrique calculé à partir de la médiane

figure 12 : Résultats individuels obtenus pour l'hCG β (résultats exprimés en UI/l) lors de l'opération 13T211-échantillon 13TB.

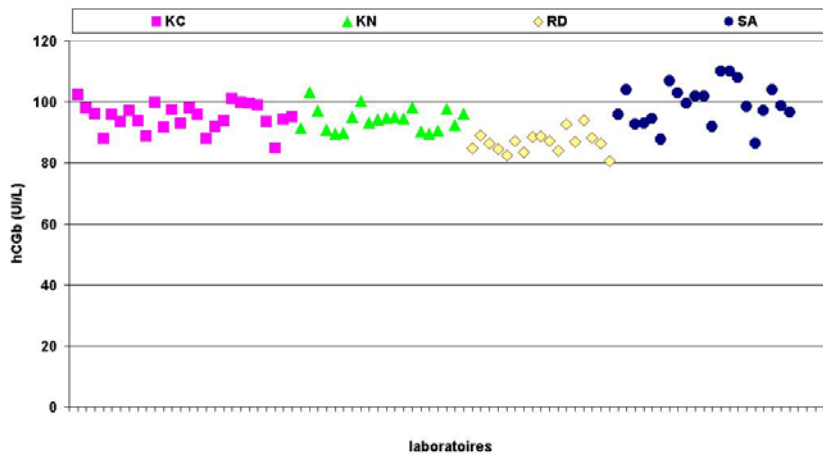
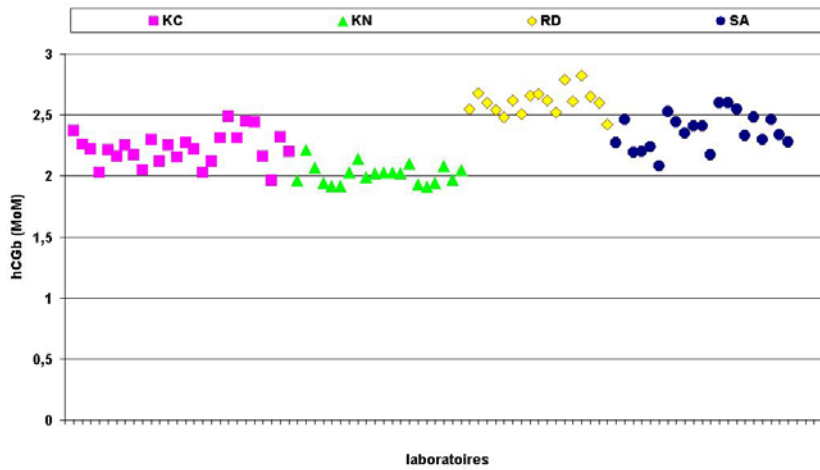


figure 13 : Résultats individuels obtenus pour l'hCGβ (MoM) lors de l'opération 13T211 – échantillon 13TB



| | |
|------|-------------------------------------|
| Code | trousse, distributeur |
| KC | DELFLIA / AutoDELFLIA, PERKIN ELMER |
| KN | Kryptor, THERMOFISHER |
| RD | Cobas, ROCHE DIAGNOSTIC |
| SA | Immulate, SIEMENS |

3- PAPP-A

Les résultats concernant le dosage de PAPP-A sont donnés dans les tableaux XXIV et XXV. Aucun résultat (mUI/L ou en MoM) n'a été exclu des calculs statistiques.

La dispersion inter-laboratoires intra-réactif des résultats rendus en mUI/L est acceptable avec des CVnp compris entre 4,7% et 8,0% (tableau XXIV). Des résultats équivalents sont obtenus après transformation des résultats en MoM.

Les figures 14 et 15 illustrent les résultats individuels obtenus en fonction de la trousse utilisée. Les résultats exprimés en mUI/L diffèrent significativement selon la trousse utilisée (test de Kruskal-Wallis, $p < 0,001$). L'écart entre la médiane de la trousse donnant les résultats les plus hauts (SIEMENS [SA]) et celle donnant les résultats les plus bas (PERKIN ELMER [KC]) est important (64,4%).

Les résultats exprimés en MoM demeurent réactif-dépendants (test de Kruskal-Wallis significatif, $p < 0,001$). L'écart entre la médiane de la trousse donnant les résultats les plus hauts (SIEMENS [SA]) et celle donnant les résultats les plus bas (THERMOFISHER [KN]) reste du même ordre (60,8% versus 64,4%).

tableau XXIV – Résultats obtenus pour la PAPP-A (résultats exprimés en mUI/L) lors de l'opération 13T211.

| Réactifs | Code | N | Médiane | R (%) | CVnp (%) |
|-----------------------------------|------|----|---------|-------|----------|
| toutes techniques | | 85 | 2290 | 100,0 | 27,81 |
| Auto Delfia/ Delfia Xpress PAPP-A | KC | 27 | 1576 | 68,8 | 8,00 |
| Kryptor PAPP-A | KN | 20 | 2341 | 102,2 | 4,74 |
| Cobas PAPP-A | RD | 17 | 2280 | 99,6 | 5,46 |
| Immulate 2000 PAPP-A | SA | 21 | 3050 | 133,2 | 7,78 |

tableau XXV – Résultats obtenus pour la PAPP-A (résultats exprimés en MoM).

| Réactifs | Code | N | Médiane | R (%) | CVnp (%) |
|-----------------------------------|------|----|---------|-------|----------|
| toutes techniques | | 85 | 0,74 | 100,0 | 23,04 |
| Auto Delfia/ Delfia Xpress PAPP-A | KC | 27 | 0,70 | 94,6 | 7,41 |
| Kryptor PAPP-A | KN | 20 | 0,68 | 91,9 | 4,36 |
| Cobas PAPP-A | RD | 17 | 0,81 | 109,5 | 6,86 |
| Immulate 2000 PAPP-A | SA | 21 | 1,13 | 152,7 | 8,20 |

N : nombre de résultats.

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

CVnp : coefficient de variation non paramétrique calculé à partir de la médiane.

figure 14 – Résultats individuels obtenus pour la PAPP-A (mUI/L) lors de l'opération 13T211.

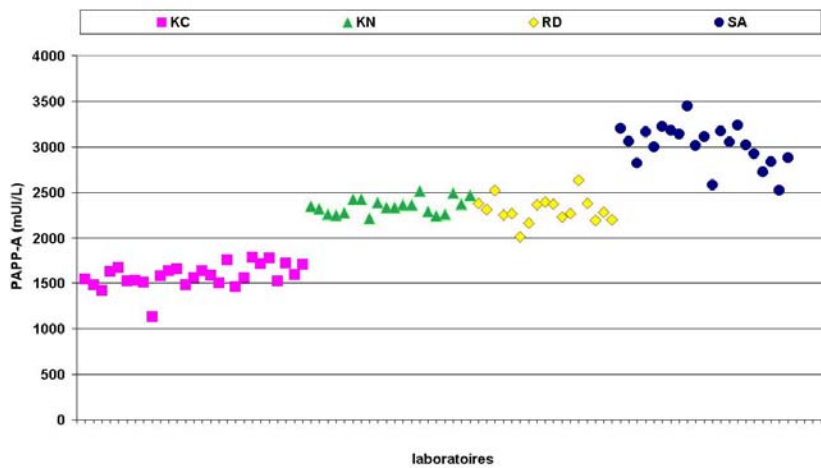
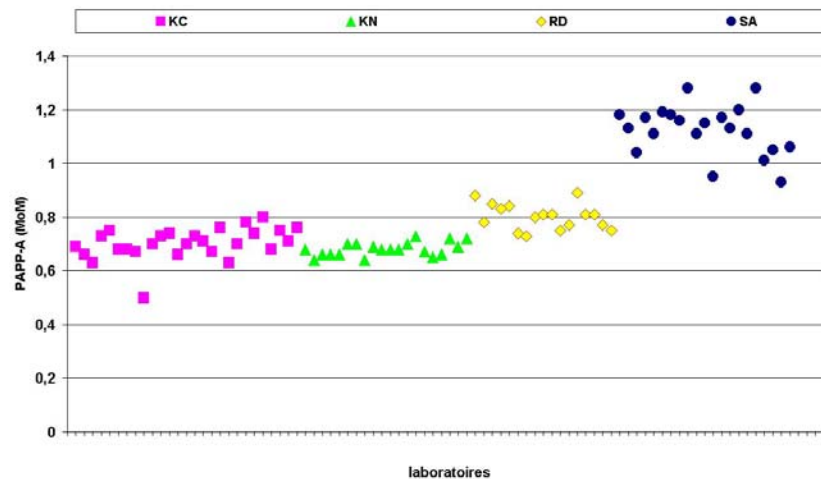


figure 15 – Résultats individuels obtenus pour la PAPP-A (MoM) lors de l’opération 13T211.



| | |
|------|-------------------------------------|
| Code | trousse, distributeur |
| KC | DELFINA / AutoDELFINA, PERKIN ELMER |
| KN | Kryptor, THERMOFISHER |
| RD | Cobas, ROCHE DIAGNOSTIC |
| SA | Immulite, SIEMENS |

3- Calcul du risque de trisomie et interprétation des résultats

Lors de l’opération 13T211, le risque calculé médian « tous systèmes analytiques » confondus était de 1/89 et l’interprétation consensus : « la patiente appartient à un groupe à risque accru de trisomie 21 » (tableau XXVI).

Quatre vingt trois laboratoires ont calculé un risque supérieur à 1/250 et 82 laboratoires ont conclu «la patiente appartient à un groupe à risque accru de trisomie 21». Un autre laboratoire a donné une conclusion illogique par rapport au risque calculé. Un autre laboratoire calcule un risque inférieur à 1/250 et conclut logiquement «la patiente n’appartient pas à un groupe à risque accru de trisomie 21».

La figure 16 illustre les résultats individuels obtenus en fonction du logiciel utilisé.

Le tableau XXVII récapitule les résultats médians obtenus par les différents systèmes réactif/logiciel utilisés lors de l’opération 13T211. C’est le système Immulite/Prisca SIEMENS qui calcule le risque le plus faible.

Au total, le calcul de risque est homogène pour trois des systèmes utilisés. Pour le système SIEMENS, en lien avec des résultats de PAPP-A et une dispersion des résultats exprimés en MoM plus élevés que les autres systèmes, les résultats obtenus pour le calcul de risque sont plus dispersés et plus proches du seuil de 1/250.

Le tableau XXVIII récapitule les résultats médians obtenus par les différents systèmes « réactif/logiciel ».

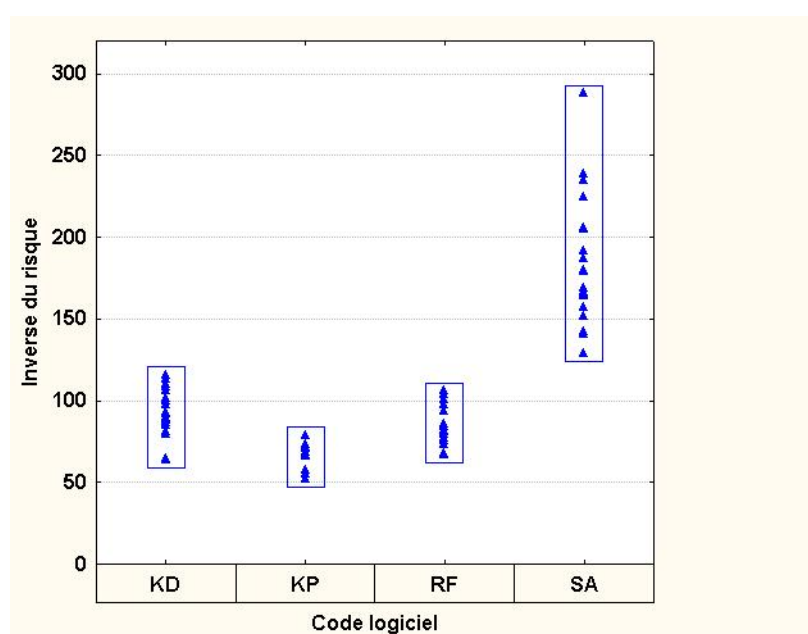
tableau XXVI : Résultat du calcul de risque tous « systèmes analytiques » confondus et interprétation consensus pour le dépistage 1T lors de l'opération 13T211.

| Echantillon | Risque calculé médian | Interprétation consensus | Nb de laboratoires en accord avec l'interprétation consensus |
|-------------|-----------------------|--|--|
| 13TB | 1/89 | la patiente appartient à un groupe à risque accru de trisomie 21 | 82/84 |

tableau XXVII : Risques calculés médians et interprétations données pour le dépistage 1T lors de l'opération 13T211 selon les systèmes de dosages utilisés.

| Echantillon | Système de dosage, Distributeur | Risque calculé médian |
|-------------|---|-----------------------|
| 12TB | DELFI A / AutoDELFI A, logiciel Lifecycle 3.2, PERKIN ELMER | 1/91 |
| | Kryptor, THERMOFISHER, logiciel Fast screen pré I plus, 1.5 | 1/69 |
| | Cobas, ROCHE | 1/82 |
| | Immulate, SIEMENS | 1/179 |

figure 16 : Résultats individuels obtenus pour l'inverse du risque calculé pour le dépistage 1T lors de l'opération 13T211 en fonction du logiciel de calcul utilisé. Les boîtes représentent la dispersion intra-logiciel. Les triangles représentent les résultats individuels.



| Code logiciel | Logiciels, Distributeurs |
|---------------|--|
| KD | Lifecycle version 3.2, PERKIN ELMER |
| KP | Fast screen Pré I plus version 1.5, THERMOFISHER |
| RF | Ssdw Lab version 5, ROCHE DIAGNOSTICS |
| SA | Prisca, SIEMENS MEDICAL SOLUTION DIAGNOSTIC |

tableau XXVIII: récapitulatif des résultats médians obtenus par les différents systèmes « réactif/logiciel » utilisés lors de l'opération 13T211

| Réactif/logiciel - distributeur | hCG β (MoM) | PAPP-A (MoM) | CN (MoM) | Risque |
|---------------------------------|-------------------|--------------|----------|--------|
| KC/KD - PERKIN | 2,22 | 0,70 | 1,37 | 1/91 |

| | | | | |
|----------------------|------|------|------|-------|
| KN/KP - THERMOFISHER | 2,02 | 0,68 | 1,47 | 1/69 |
| RD/RF - ROCHE | 2,61 | 0,81 | 1,35 | 1/82 |
| SA/SA - SIEMENS | 2,35 | 1,13 | 1,35 | 1/179 |

13T212

Echantillon 13TC - dépistage premier trimestre (1T)

Quatre-vingt-six laboratoires ont rendu des résultats. Un laboratoire a déclaré ne pas réaliser le dépistage premier trimestre. Un laboratoire a reçu l'échantillon tardivement, ces résultats ont été exclus de l'analyse statistique.

Réactifs utilisés pour le dépistage premier trimestre

La répartition entre les différents réactifs est similaire à celle observée lors de l'opération 13T212 (tableau XXIX).

tableau XXIX – Réactifs utilisés pour le dépistage T21 premier trimestre lors de l'opération 13T212.

| Code | réactifs, distributeurs | Nombre d'utilisateurs |
|------|-------------------------|-----------------------|
| | | 13T212 – 13TC |
| KC | AutoDELFA, PERKIN ELMER | 27 |
| KN | Kryptor, THERMOFISHER | 19 |
| RD | Cobas, ROCHE DIAGNOSTIC | 19 |
| SA | Immuline , SIEMENS | 21 |

Résultats des participants

1- Clarté nucale

Le calcul des MoM de CN a été réalisé par 86 laboratoires.

Les résultats concernant le calcul des MoM de CN sont donnés dans le tableau XXX. Selon le logiciel utilisé, la valeur modale de CN varie entre 1,42 et 1,54 MoM.

tableau XXX : Clarté nucale exprimée en MoM, valeurs modales obtenues lors de l'opération 13T212 pour l'échantillon 13TC.

| code | logiciels | Valeur modale (MoM) |
|------|--|---------------------|
| - | Tous logiciels | 1,45 |
| KC | Life cycle version 3.2 PERKIN ELMER | 1,54 |
| KP | Fast screen pre I plus version 1.5, THERMOFISHER | 1,42 |
| RF | Ssdw Lab version 5 et 6, ROCHE DIAGNOSTIC | 1,45 |
| SA | Prisca (version 4), SIEMENS | 1,45 |

2- hCG β

Les résultats concernant le dosage de l'hCG β sont donnés dans les tableaux XXXI et XXXII.

Trois résultats en UI/L et quatre résultats en MoM aberrants ont été exclus des calculs statistiques.

La dispersion inter-laboratoires intra-réactif est acceptable, avec pour les résultats rendus en UI/L, des CVnp compris entre 3,4 et 9,1%. Des résultats équivalents sont obtenus après transformation des résultats en MoM (3,9 à 9,3%).

Les figures 17 et 18 illustrent les résultats individuels en fonction de la trousse de réactif utilisée. Les résultats exprimés en UI/L diffèrent significativement selon la trousse utilisée (test de Kruskal-Wallis, $p < 0,001$). L'écart entre la médiane de la trousse donnant les résultats les plus hauts (trousse Immulite SIEMENS [SA]) et la médiane de la trousse donnant les résultats les plus bas (trousse Cobas ROCHE [RD]) est de 18,5%.

La transformation des résultats en MoM modifie peu l'écart entre la médiane des trouses donnant les résultats les plus hauts (trousse Cobas ROCHE [RD]) et la médiane de la trousse donnant les résultats les plus bas (trousse Kryptor THERMOFISHER [KN]) (15,5% versus 18,5%). Les résultats demeurent réactif-dépendants (test de Kruskal-Wallis, $p < 0,001$).

tableau XXXI : Résultats obtenus pour l'hCG β (résultats exprimés en UI/L) lors de l'opération 13T212

| Réactifs | Code | N | Mediane | R (%) | CVnp (%) |
|---------------------------------------|------|----|---------|-------|----------|
| toutes techniques | | 83 | 36,80 | 100,0 | 7,45 |
| Auto Delfia/ Delfia Xpress BhCG libre | KC | 26 | 38,15 | 103,7 | 5,29 |
| Kryptor BhCG libre | KN | 19 | 36,90 | 100,3 | 3,42 |
| Cobas hCGB | RD | 19 | 31,70 | 86,1 | 6,08 |
| Immuline 2000 BhCG libre | SA | 19 | 38,50 | 104,6 | 9,05 |

tableau XXXII : Résultats obtenus pour l'hCG β (résultats exprimés en MoM) lors de l'opération 13T212.

| Réactifs | Code | N | Mediane | R (%) | CVnp (%) |
|---------------------------------------|------|----|---------|-------|----------|
| toutes techniques | | 82 | 1,03 | 100,0 | 8,64 |
| Auto Delfia/ Delfia Xpress BhCG libre | KC | 26 | 1,02 | 99,5 | 4,52 |
| Kryptor BhCG libre | KN | 19 | 0,96 | 93,2 | 3,86 |
| Cobas hCGB | RD | 19 | 1,12 | 108,7 | 5,96 |
| Immuline 2000 BhCG libre | SA | 18 | 1,06 | 102,9 | 9,27 |

N : nombre de résultats.

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

CVnp : coefficient de variation non paramétrique calculé à partir de la médiane.

figure 17 : Résultats individuels obtenus pour l'hCG β (résultats exprimés en UI/L) lors de l'opération 13T212.

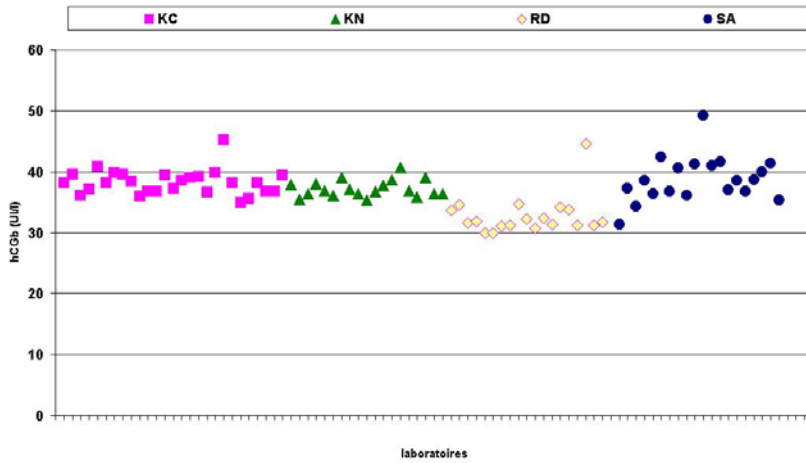
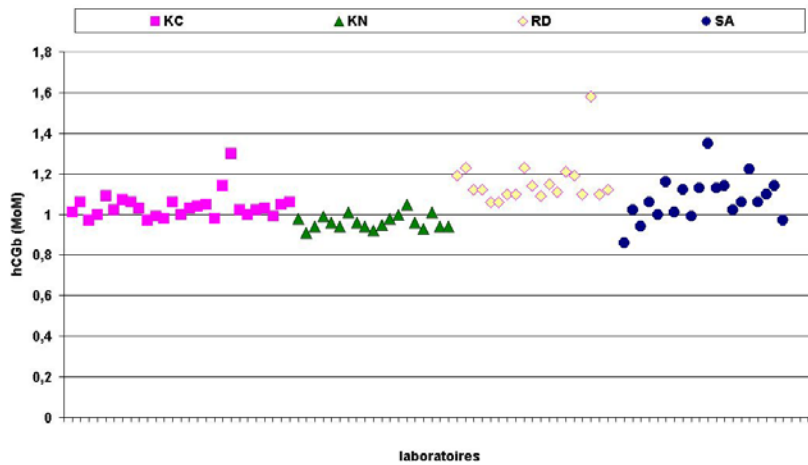


figure 18 : Résultats individuels obtenus pour l'hCG β (MoM) lors de l'opération 13T212



| | |
|------|-----------------------------------|
| Code | trousse, distributeur |
| KC | DELFLA / AutoDELFLA, PERKIN ELMER |
| KN | Kryptor, THERMOFISHER |
| RD | Cobas, ROCHE DIAGNOSTIC |
| SA | Immulate, SIEMENS |

3- PAPP-A

Les résultats concernant le dosage de la PAPP-A sont donnés dans les tableaux XXXIII et XXXIV. Un résultat en mUI/L et deux résultats en MoM ont été exclus des calculs statistiques.

La dispersion inter-laboratoires intra-réactif des résultats rendus en mUI/l est acceptable avec des CVnp compris entre 3,7% et 8,6% (tableau XXXIII). Des résultats équivalents sont obtenus après transformation des résultats en MoM (2,4 à 8,5%).

Les figures 19 et 20 illustrent les résultats individuels obtenus en fonction de la trousse utilisée. Les résultats exprimés en mUI/L diffèrent significativement selon la trousse utilisée (test de Kruskal-Wallis, $p < 0,001$). L'écart entre la médiane de la trousse donnant les résultats les plus hauts (Immulite SIEMENS [SA]) et celle donnant les résultats les plus bas (AutoDelfia PERKIN ELMER [KC]) est important (54%).

Après calcul des MoM, l'écart entre la médiane de la trousse donnant les résultats les plus hauts (Immulite SIEMENS [SA]) et celle donnant les résultats les plus bas (Kryptor THERMOFISHER [KN]) ne s'améliore pas (50% versus 54%). Les résultats exprimés en MoM demeurent réactif-dépendants (test de Kruskal-Wallis significatif, $p < 0,001$).

tableau XXXIII – Résultats obtenus pour la PAPP-A (résultats exprimés en mUI/L) lors de l'opération 13T212.

| Réactifs | Code | N | Médiane | R (%) | CVnp (%) |
|-----------------------------------|------|----|---------|-------|----------|
| toutes techniques | | 85 | 4082 | 100,0 | 22,78 |
| Auto Delfia/ Delfia Xpress PAPP-A | KC | 27 | 3002 | 73,5 | 5,28 |
| Kryptor PAPP-A | KN | 19 | 4190 | 102,6 | 3,72 |
| Cobas PAPP-A | RD | 19 | 4040 | 99,0 | 4,97 |
| Immulite 2000 PAPP-A | SA | 20 | 5218 | 127,8 | 8,60 |

tableau XXXIV – Résultats obtenus pour la PAPP-A (résultats exprimés en MoM) lors de l'opération 13T212.

| Réactifs | Code | N | Médiane | R (%) | CVnp (%) |
|-----------------------------------|------|----|---------|-------|----------|
| toutes techniques | | 84 | 1,17 | 100,0 | 10,41 |
| Auto Delfia/ Delfia Xpress PAPP-A | KC | 27 | 1,14 | 97,0 | 4,55 |
| Kryptor PAPP-A | KN | 19 | 1,06 | 90,2 | 4,90 |
| Cobas PAPP-A | RD | 19 | 1,23 | 104,7 | 2,41 |
| Immulite 2000 PAPP-A | SA | 19 | 1,65 | 140,4 | 8,54 |

N : nombre de résultats.

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

CVnp : coefficient de variation non paramétrique calculé à partir de la médiane.

figure 19 – Résultats individuels obtenus pour la PAPP-A (mUI/l) lors de l'opération 13T212.

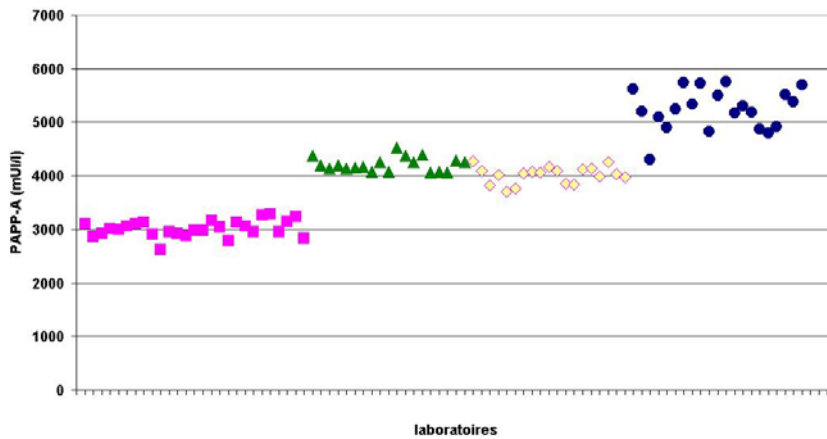
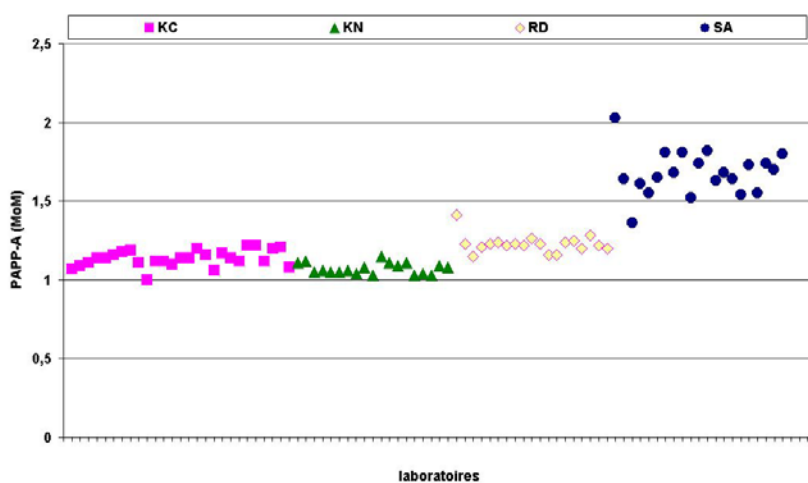


figure 20 – Résultats individuels obtenus pour la PAPP-A (MoM) lors de l'opération 13T212.



| | |
|------|-------------------------------------|
| Code | trousse, distributeur |
| KC | DELFINA / AutoDELFINA, PERKIN ELMER |
| KN | Kryptor, THERMOFISHER |
| RD | Cobas, ROCHE DIAGNOSTIC |
| SA | Immulite, SIEMENS |

3- Calcul du risque de trisomie et interprétation des résultats

Lors de l'opération 13T212, le risque calculé médian « tous systèmes analytiques » confondus était de 1/609 et l'interprétation consensus : « la patiente n'appartient pas à un groupe à risque accru de trisomie 21 » (tableau XXXV).

Les risques calculés médians obtenus avec les différents systèmes réactif – logiciel sont donnés dans le tableau XXXVI.

Tous les laboratoires ont calculé un risque inférieur à 1/250 et ont conclu « la patiente n'appartient pas à un groupe à risque accru de trisomie 21 ».

Lors de cette opération, la dispersion des résultats du calcul de risque rendus est correcte (figure 21). On note toutefois une dispersion plus importante pour les résultats rendus avec le système SIEMENS.

Le tableau XXXVII récapitule les résultats médians obtenus par les différents systèmes réactif/logiciel utilisés lors de l'opération 13T212. Comme pour l'opération 13T211, c'est le système Immulite/Prisca SIEMENS qui calcule le risque le plus faible.

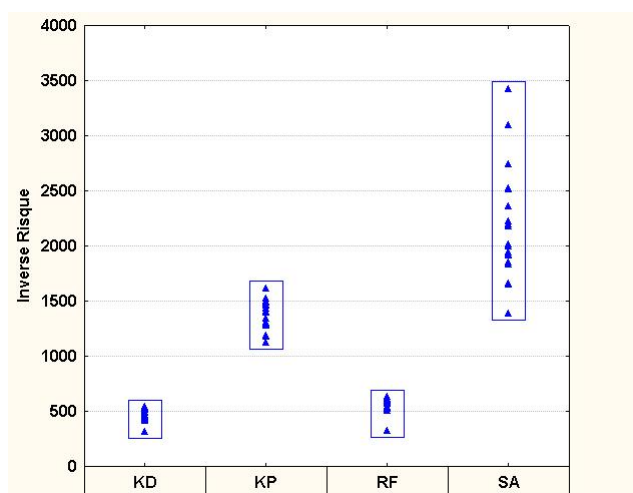
tableau XXXV : Résultat du calcul de risque tous « systèmes analytiques » confondus et interprétation consensus pour le dépistage 1^{er} trimestre lors de l'opération 13T212.

| Echantillon | Risque calculé médian | Interprétation consensus | Nb de laboratoires en accord avec l'interprétation consensus |
|-------------|-----------------------|--|--|
| 13TC | 1/609 | la patiente n'appartient pas à un groupe à risque accru de trisomie 21 | 85/85 |

tableau XXXVI : Risques calculés médians et interprétations données pour le dépistage 1^{er} trimestre lors de l'opération 13T212 selon les systèmes de dosages utilisés.

| Echantillon | Système de dosage, Distributeur | Risque calculé médian |
|-------------|---|-----------------------|
| 13TC | DELFI A / AutoDELFI A, logiciel Lifecycle 3.2, PERKIN ELMER | 1/465 |
| | Kryptor, THERMOFISHER, logiciel Fast screen pré I plus, 1.5 | 1/1406 |
| | Cobas, ROCHE | 1/580 |
| | Immulite, SIEMENS | 1/2003 |

figure 21 : Résultats individuels obtenus pour l'inverse du risque calculé pour le dépistage 1^{er} trimestre lors de l'opération 13T212 en fonction du logiciel de calcul utilisé. Les boîtes représentent la dispersion intra-procédure et la dispersion intra-logiciel. Les triangles représentent les résultats individuels.



| Code logiciel | Logiciels, Distributeurs |
|---------------|--|
| KD | Lifecycle version 3.2, PERKIN ELMER |
| KP | Fast screen Pré I plus version 1.5, THERMOFISHER |
| RF | Ssdw Lab version 5 et 6, ROCHE DIAGNOSTICS |
| SA | Prisca, SIEMENS MEDICAL SOLUTION DIAGNOSTIC |

tableau XXXVII : récapitulatif des résultats médians obtenus par les différents systèmes « réactif/logiciel » utilisés lors de l'opération 13T212

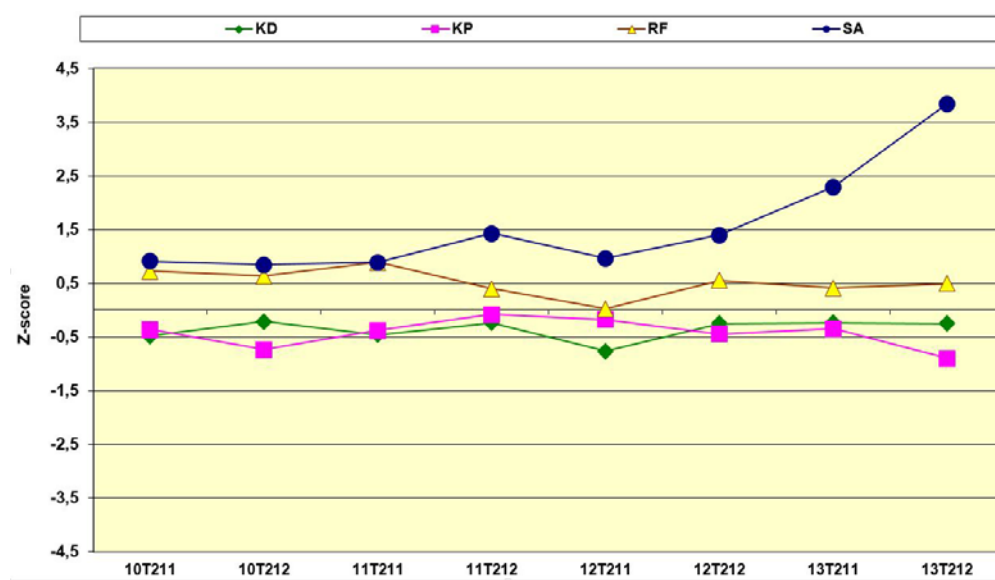
| Réactif/logiciel/distributeur | hCGβ (MoM) | PAPP-A (MoM) | CN (MoM) | Risque |
|-------------------------------|------------|--------------|----------|--------|
| KC/KC - PERKIN | 1,02 | 1,14 | 1,54 | 1/465 |
| KN/KP - THERMOFISHER | 0,96 | 1,06 | 1,42 | 1/1476 |
| RD/RF - ROCHE | 1,12 | 1,23 | 1,45 | 1/580 |
| SA/SA - SIEMENS | 1,06 | 1,65 | 1,45 | 1/2003 |

Evolution des écarts inter-techniques des MoM de PAPP-A.

Afin de pouvoir comparer plus aisément l'évolution de l'écart inter-technique pour les résultats de PAPP-A exprimé en MoM, les résultats de chaque système de dosage ont été exprimés en Z-score [(résultat médian trousse – résultat médian toutes techniques)/ écart-type toutes techniques].

Les résultats du système Siemens [SA] s'écartent de plus en plus des résultats obtenus par les 3 autres systèmes. L'industriel a été interrogé sur ce point, les médianes de MoM des paramètres dosés pour le dépistage T21 premier trimestre nous ont été fournies. Aucune dérive n'a été mise en évidence. Toutefois, l'ANSM va mettre en place un contrôle du dispositif de dosage Siemens afin de comprendre les raisons de l'écart observé lors des opérations du contrôle de qualité.

figure 22 : Evolution au cours du temps des Z-score des résultats médians de PAPP-A en MoM obtenus par les différents systèmes de dosages.



Evaluation des résultats individuels par des limites acceptables

Pour mieux apprécier les résultats obtenus par chaque laboratoire, des limites acceptables (LA) ont été définies. Elles ont été établies en tenant compte des performances analytiques des réactifs contrôlés qui constituent l'état de l'art.

Les LA appliquées lors des opérations 13T211 et 13T212 sont regroupées dans le tableau XXXVIII.

Les résultats sont satisfaisants avec :

- 95,5% de « bons résultats » (résultats évalués en « A » ou en « B ») pour l'échantillon 13TA, dépistage deuxième trimestre.
- 97,3% pour l'échantillon 13TB, dépistage premier trimestre.
- 97,3% pour l'échantillon 13TC, dépistage premier trimestre

tableau XXXVIII – Limites acceptables appliquées lors des opérations 13T211 et 13T212.

| | Echantillons | | |
|--|--------------|---------|---------|
| | 13TA-2T | 13TB-1T | 13TC-1T |
| AFP (kUI/l) – AFP (MoM) | 15% | - | - |
| hCG (UI/l) – hCG (MoM) | 15% | - | - |
| hCG $\square\square$ (UI/l) - hCG $\square\square$ (MoM) | 15% | - | - |
| estriol libre (nmol/l) – estriol libre (MoM) | 15% | - | - |
| | | | |
| hCG \square (UI/l) - hCG $\square\square$ (MoM) | | 12% | 12% |
| PAPP-A (mUI/l) – PAPP-A (MoM) | | 15% | 12% |

Conclusion générale

Concernant le dépistage au deuxième trimestre, comme les années précédentes, la précision analytique des différentes troupes de dosage est bonne pour tous les paramètres avec des CVnp inférieurs à 10% pour les résultats exprimés en unité malgré des effectifs faibles.

Cependant, l'utilisation de données cliniques erronées (prise en compte du facteur tabac) par certains laboratoires a eu pour conséquence une hétérogénéité des résultats d'hCG et d'hCG β exprimés en MoM et un accroissement de la dispersion du calcul de risque.

De plus, la spécificité de l'échantillon 13TA (modification de l'équilibre hCG – fraction β -libre) est en grande partie responsable de l'absence d'interprétation consensus sur l'opération 13T211 pour le dépistage 2T. L'excès de fraction β -libre conduit à accroître le risque calculé et fait basculer l'interprétation dans le groupe à risque.

Toutefois, tous les laboratoires ont commenté de façon logique le résultat, rendant une conclusion cohérente en regard du profil des marqueurs sériques de l'échantillon 13TA.

De plus, la grande majorité des laboratoires a commenté le résultat d'AFP et a donné la conclusion consensus souhaitée.

Concernant le dépistage au deuxième trimestre séquentiel intégré, les résultats des marqueurs sériques maternels 2T obtenus pour l'échantillon 13TA devaient être utilisés combinés à une mesure de clarté nucale pour effectuer un calcul de risque. L'absence d'interprétation consensus s'explique également par les caractéristiques de l'échantillon 13TA.

Concernant le dépistage au premier trimestre, la précision analytique des différentes troupes utilisées pour doser l'hCG β et la PAPP-A est bonne (CVnp <10%).

Pour la PAPP-A, comme en 2010, 2011 et 2012, quelle que soit la concentration étudiée, la dispersion des résultats exprimés en mUI/l ou en MoM est importante. L'écart inter-technique est insuffisamment corrigé par la transformation des résultats en MoM. L'ANSM va mettre en place avec l'industriel concerné une étude pour comprendre la cause de cette dispersion des résultats après expression en MoM.

Le profil des marqueurs sériques au premier trimestre des deux échantillons envoyés aux laboratoires autorisés se situait de part et d'autre de la valeur seuil. Pour les deux échantillons, les laboratoires ont commenté de façon logique les résultats, rendant une conclusion consensus cohérente en regard du profil des marqueurs sériques /clarté nucale proposé.