

Annales du Contrôle National de Qualité des Analyses de Biologie Médicale

Dosage des marqueurs sériques maternels de la trisomie 21 :
AFP
hCG
hCG β
estriol libre

Marqueurs sériques maternels
de la trisomie 21

09T21

juin et décembre 2009

Edition : septembre 2010

Marqueurs sériques maternels de la trisomie 21 2009

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

	09T211	09T212
Expédition	25/05/2009	07/12/2009
Clôture	22/06/2009	04/01/2010
Edition des compte-rendus individuels	26/08/2009	26/04/2010
Echantillon - Paramètres contrôlés	09TA : AFP, hCG, hCG β , estriol libre	09TB : AFP, hCG, hCG β , estriol libre
Nombre de laboratoires concernés*	79	81
Nombre de laboratoires participants**	79	81

* 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 2009

Deux opérations de contrôle du dépistage de la trisomie 21 fœtale par les marqueurs sériques maternels ont été réalisées en 2009.

Au total 79 (09T211) et 81 laboratoires (09T212) étaient concernés, la participation est de 100%.

Les résultats de 77 et de 79 laboratoires ont été exploités lors des opérations 09T211 et 09T212.

Les laboratoires devaient doser les marqueurs sériques maternels de la trisomie 21 selon la procédure utilisée dans leur laboratoire (double ou triple test) et rendre leurs résultats en unité et en Multiple de la Médiane (MoM). A partir d'une simulation d'un dossier de patiente comportant les dates de naissance, de début de grossesse, de prélèvement, le poids maternel et l'imprégnation tabagique, le laboratoire devait effectuer un calcul de risque combinant l'âge maternel et les marqueurs sériques puis interpréter le résultat. De même, 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.

Les résultats observés sont globalement satisfaisants : bonne participation des laboratoires au Contrôle national de qualité, utilisation de techniques présentant une précision correcte, réponse homogène 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 09T211 et 09T212

Paramètre		09T211		09T212	
		Résultat	MoM	Résultat	MoM
AFP	Nombre total de résultats	77	77	79	79
	Médiane (kUI/l - MoM)	27,1	0,87	31,9	1,03
	CV (%)	7,5	6,8	5,8	3,8
hCG	Nombre total de résultats	52	52	52	52
	Médiane (UI/l - MoM)	59 307	2,36	30 465	1,42
	CV (%)	8,3	10,5	9,1	11,8
hCGβ	Nombre total de résultats	25	25	27	27
	Médiane (UI/l - MoM)	51,9	3,68	15,1	1,26
	CV (%)	3,6	7,2	5,5	9,4
Estriol libre	Nombre total de résultats	8	8	7	7
	Médiane (nmol/l - MoM)	2,8	0,85	3,6	1,13
	CV (%)	6,6	7,6	7,2	7,9

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.

Définition des échantillons

Les échantillons ont été préparés à partir du mélange, sans surcharge, de sérums de femmes enceintes prélevées pour dosage des marqueurs sériques maternels de la trisomie 21. Les sérums constituant les pools ont été conservés congelés jusqu'au moment de l'envoi et répondent aux spécifications suivantes : 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. 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 09T211 et 09T212.

	09T211	09T212
Grossesse monofoetale	oui	oui
Tabac	non	oui
Date de naissance	01/01/1974	01/01/1974
Date de début de grossesse	12/01/2009	24/08/2009
Date de prélèvement	20/04/2009	30/11/2009
Poids	65 kg	65 kg

Les résultats des différents marqueurs devaient conduire aux commentaires suivants :

09T211 : « la patiente appartient à un groupe à risque accru de trisomie 21 »

« la patiente n'appartient pas à un groupe à risque accru de non fermeture du tube neural..... »

09T212 : « la patiente n'appartient pas à un groupe à risque accru de trisomie 21 »

« la patiente n'appartient pas à un groupe à risque accru de non fermeture du tube neural..... »

Réception des échantillons

L'envoi et la réception des échantillons se sont bien déroulés. La très grande majorité des laboratoires participants, 97,4% pour l'opération 09T211 et 96,2% pour l'opération 09T212, ont reçu l'échantillon en moins de 72 heures. Les résultats des laboratoires ayant reçu les échantillons plus tardivement n'en sont pas affectés et ont donc été inclus dans l'analyse statistique.

Lors de l'opération 09T211, 2 bordereaux-réponses ont été rendus sans résultat (arrêt de l'activité), les résultats de 77 laboratoires ont été pris en compte.

De même, lors de l'opération 09T212, 2 bordereaux-réponses ont été rendus sans résultat, les résultats des 79 laboratoires ont été exploités.

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 en 2009.

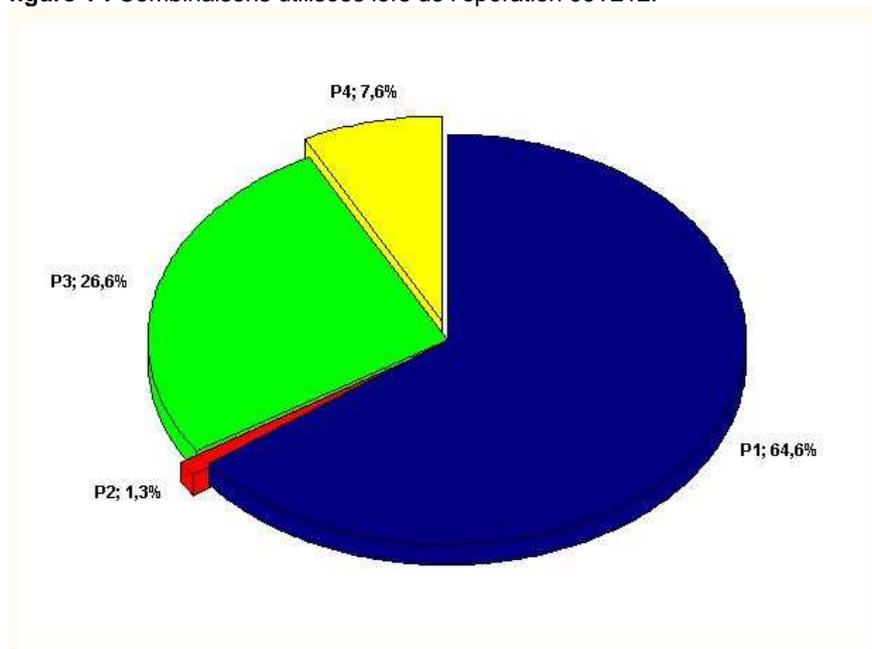
marqueurs sériques	nombre (%) d'utilisateurs	
	09T211	09T212
AFP	77 (100%)	79 (100%)
hCG	52 (67,5%)	52 (65,8%)
hCG β	25 (32,5%)	27 (34,2%)
estriol	8 (10,4%)	7 (8,9%)

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 nettement avec 64,9 puis 64,6% des participants ayant choisi cette combinaison en 2009.

tableau IV : Combinaisons utilisées pour le dépistage de la trisomie 21 en 2009.

Code	Paramètres dosés	09T211	09T212
		% utilisateurs	% utilisateurs
P1	AFP, hCG	64,9	64,6
P2	AFP, hCG, estriol libre	2,6	1,3
P3	AFP, hCG β	24,7	26,6
P4	AFP, hCG β , estriol libre	7,8	7,6

figure 1 : Combinaisons utilisées lors de l'opération 09T212.



Réactifs utilisés

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 (les) logiciel(s) associé(s).

Cinq systèmes « réactifs/automates » ont été utilisés lors des opérations 09T211 et 09T212 (tableau V). Les systèmes ACS: 180 SIEMENS [RI] et ADVIA Centaur [SI] ne sont plus utilisés (arrêt de commercialisation en décembre 2008). 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, BRAHMS France, 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, nous présentons la répartition des réactifs utilisés pour le dosage de l'AFP lors de l'opération 09T212 sur la figure 2.

figure 2 : Répartition des réactifs utilisés lors de l'opération 09T212 pour le dosage de l'AFP.

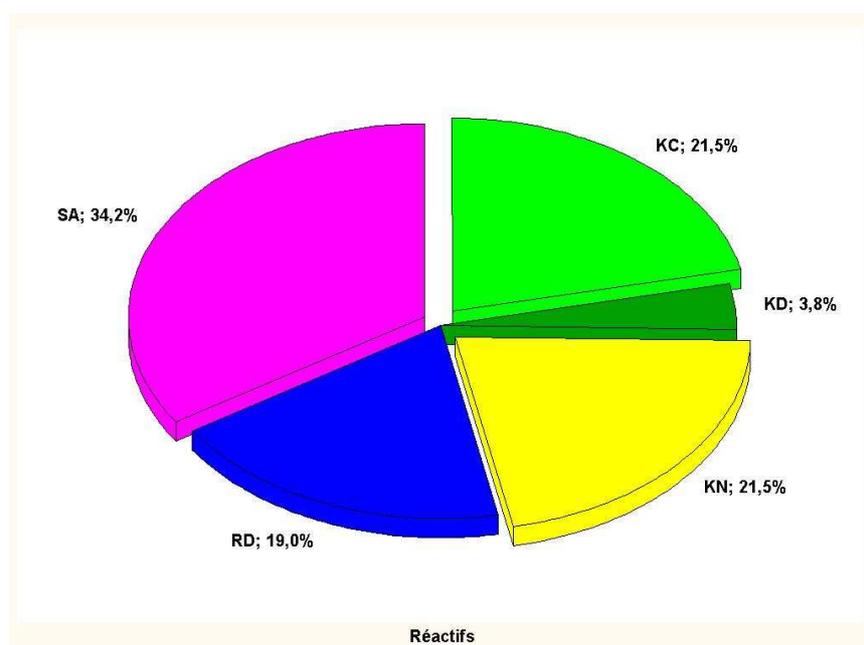


tableau V – Réactifs utilisés lors des opérations 09T211 et 09T212 pour le dosage de l'AFP.

Code	réactifs, distributeurs	Nombre d'utilisateurs	
		09T211	09T212
KC	DELFIA/ AutoDELFIA AFP , PERKIN ELMER	13	16
KD	DELFIA/ AutoDELFIA AFP/ β -hCG dual , PERKIN ELMER	5	4
KN	Kryptor AFP, BRAHMS France	18	17
RD	Elecsys AFP, ROCHE DIAGNOSTIC	15	15
SA	Immulite AFP, SIEMENS	26	27

Résultats des participants

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 77 laboratoires. La dispersion inter-laboratoires intra-réactif est acceptable pour les résultats rendus en kUI/l avec des CVnp compris entre 1,1 et 9,2%. Après transformation des résultats en MoM, les Cvnp sont du même ordre compris entre 0,7 et 11,2%.

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 25,3 à 28,4 kUI/l, c'est la trousse Kryptor BRAHMS [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 DELFIA PERKIN ELMER (KC), est modéré (11,2%). 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 du même ordre (10,3%) avec des résultats médians variant entre 0,85 et 0,94. Les résultats exprimés en MoM demeurent réactif-dépendant, 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).

Réactifs	Code	N	Mediane	R (%)	CVnp (%)
toutes techniques		77	27,10	100,0	7,52
Delfia /Auto Delfia /Delfia Xpress AFP	KC	13	25,30	93,4	9,23
Delfia/ Auto Delfia hAFP/Free BhCG dual	KD	5	27,80	102,6	1,07
Kryptor AFP	KN	18	28,35	104,6	2,88
Elecsys AFP	RD	15	27,20	100,4	5,18
Immulite / Imm. 2000/ Imm. 2500 AFP	SA	26	25,70	94,8	5,19

tableau VII : Résultats obtenus pour l'AFP (résultats exprimés en MoM).

Réactifs	Code	N	Mediane	R (%)	CVnp (%)
toutes techniques		77	0,87	100,0	6,82
Delfia /Auto Delfia /Delfia Xpress AFP	KC	13	0,86	98,9	11,21
Delfia/ Auto Delfia hAFP/Free BhCG dual	KD	5	0,94	108,0	0,74
Kryptor AFP	KN	18	0,88	101,7	3,56
Elecsys AFP	RD	15	0,85	97,7	6,10
Immulite / Imm. 2000/ Imm. 2500 AFP	SA	26	0,85	97,7	6,32

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 09T211.

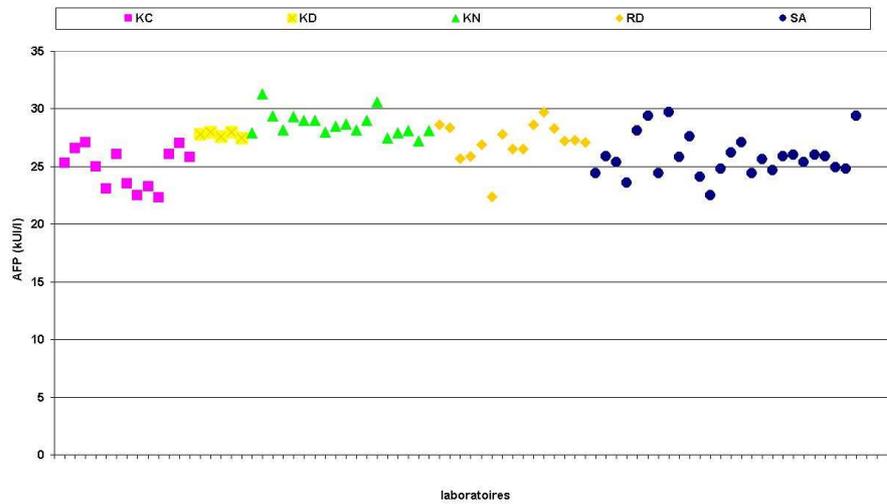
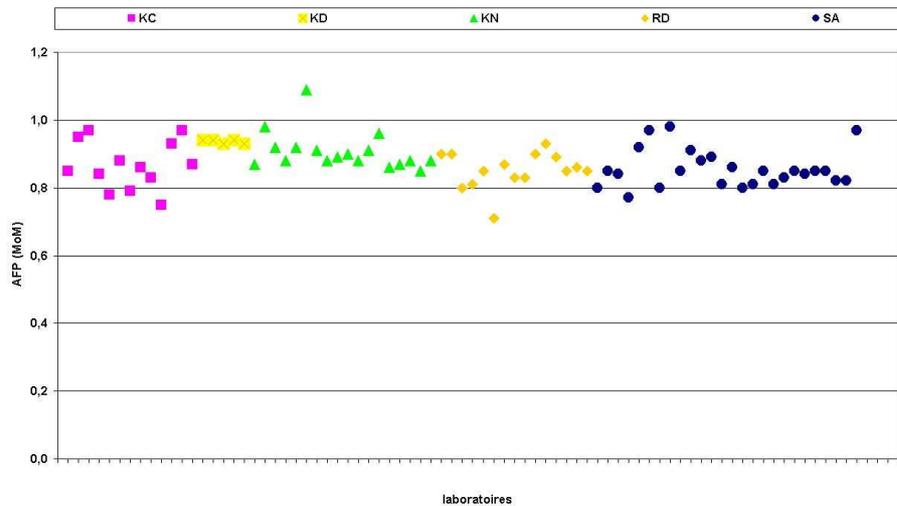


figure 4 : Résultats individuels obtenus pour l'AFP (MoM) lors de l'opération 09T211



Code	trousse, distributeur
KC	DELFLA / AutoDELFLA, PERKIN ELMER
KD	DELFLA / AutoDELFLA Dual AFP/ β -hCG dual, PERKIN ELMER
KN	Kryptor, BRAHMS France
RD	Elecsys, ROCHE DIAGNOSTIC
SA	Immulite, SIEMENS

2- hCG

Le dosage de l'hCG a été effectué par 52 laboratoires soit 67,5% des participants. Les résultats concernant le dosage de l'hCG sont donnés dans les tableaux VIII et IX. Les trousse les plus utilisées sont les trousse Immulite SIEMENS [SA], Elecsys ROCHE [RD] avec 26 et 15 utilisateurs respectivement. La dispersion inter-laboratoires intra-réactif des résultats rendus en UI/l est acceptable, avec des CVnp compris entre 3% et 9,7% (tableau VIII). Après transformation des résultats en MoM, les dispersions inter-laboratoires intra-réactif sont équivalentes.

Les figures 5 et 6 illustrent les résultats individuels obtenus en fonction de la trousse utilisée. Les résultats exprimés en UI/l et après transformation en MoM ne diffèrent pas selon la trousse utilisée (test de Kruskal-Wallis non significatif). Lorsque les résultats sont exprimés en UI/l, l'écart entre la médiane de la trousse donnant les résultats les plus hauts (Kryptor BRAHMS [KN]) et celle donnant les résultats les plus bas (Elecsys ROCHE [RD]) est de 6,1%.

Après conversion en MoM, l'écart entre la médiane de la trousse donnant les résultats les plus hauts (Kryptor BRAHMS [KN]) et celle donnant les résultats les plus bas (Immulite SIEMENS [SA]) est de 11%.

Concernant le réactif SIEMENS [SA], rappelons que suite à 2 signalements de réactovigilance et à la mise en évidence par le fabricant d'une inadaptation des valeurs de référence sur les systèmes PRISCA / Immulite 2500, une correction des valeurs de référence sur le système PRISCA / Immulite 2500 avait été réalisée peu de temps avant le début de l'opération 09T211. Aucune différence significative n'a été noté entre les résultats (bruts et après transformation en MoM) obtenus sur les automates Immulite 2000 (15 utilisateurs) et Immulite 2500 (11 utilisateurs).

Toutefois, comme lors de l'opération 08T211 pour le réactif SIEMENS [SA], la médiane des résultats exprimés en UI/l, est proche de la médiane toute technique (R = 100%), alors que la médiane des résultats exprimés en MoM, se décale vers les valeurs basses (R = 93,3%) (cf. annales 2008).

tableau VIII : Résultats obtenus pour l'hCG (résultats exprimés en UI/l).

Réactifs	Code	N	Mediane	R (%)	CVnp (%)
toutes techniques		52	59307	100,0	8,27
Delfia/ Auto Delfia hCG	KC	5	60310	101,7	3,00
Kryptor hCG + bêta	KN	6	61420	103,6	3,50
Elecsys hCG	RD	15	57838	97,5	7,91
Immulite/ Imm. 2000/ Imm. 2500 hCG	SA	26	59307	100,0	9,68

tableau IX : Résultats obtenus pour l'hCG (résultats exprimés en MoM).

Réactifs	Code	N	Mediane	R (%)	CVnp (%)
toutes techniques		52	2,36	100,0	10,54
Delfia/ Auto Delfia hCG	KC	5	2,46	104,5	3,02
Kryptor hCG + bêta	KN	6	2,47	105,1	3,30
Elecsys hCG	RD	15	2,42	102,8	7,96
Immulite/ Imm. 2000/ Imm. 2500 hCG	SA	26	2,22	94,1	10,21

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 5 : Résultats individuels obtenus pour l'hCG (UI/l) lors de l'opération 09T211.

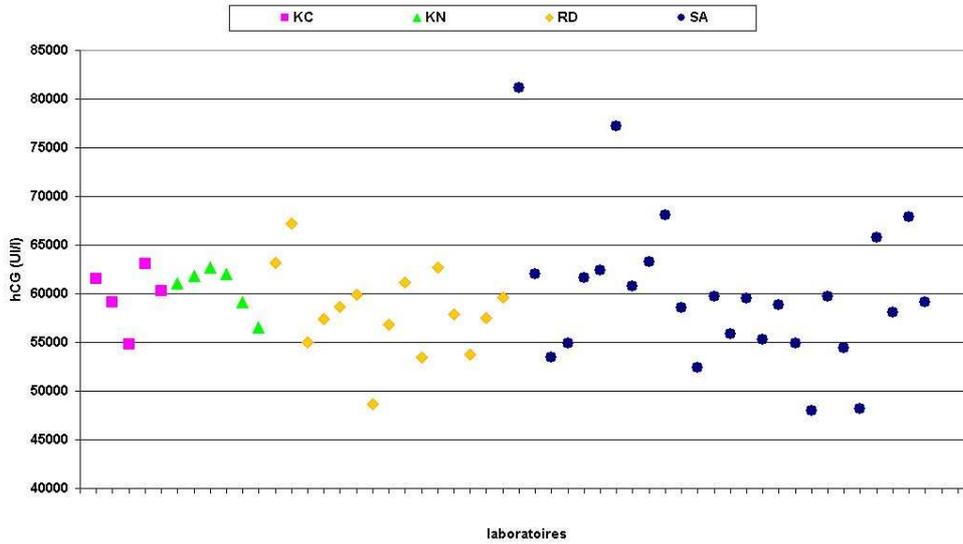
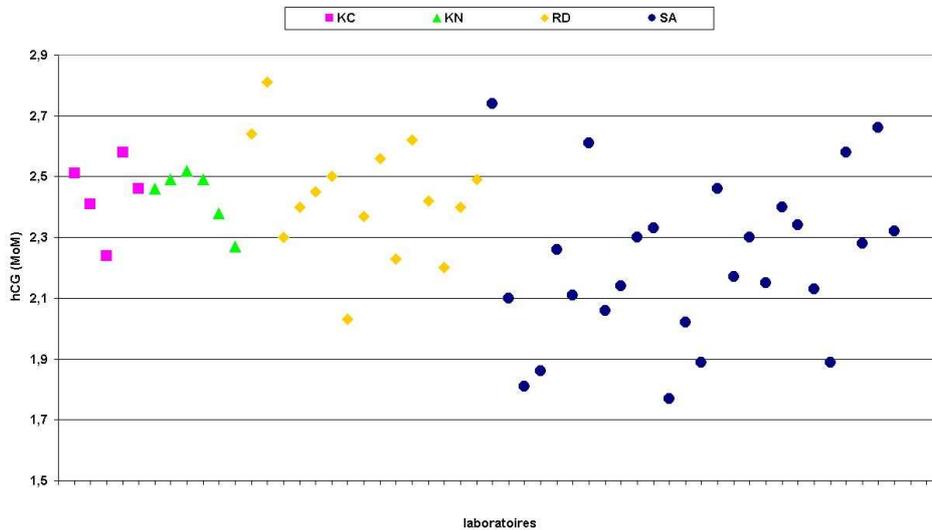


figure 6 : Résultats individuels obtenus pour l'hCG (MoM) lors de l'opération 09T211.



Code	trousse, distributeur
KC	DELFLIA / AutoDELFLIA, PERKIN ELMER
KN	Kryptor, BRAHMS France
RD	Elecsys, ROCHE DIAGNOSTIC
SA	Immulinite, SIEMENS

3- hCG β

Le dosage de l'hCG β a été effectué par 25 laboratoires soit 32,5% des participants. Les résultats concernant le dosage de l'hCG β sont donnés dans les tableaux X et XI. La dispersion inter-laboratoires intra-réactif des résultats exprimés en valeur brute ou en MoM est correcte, avec des CVnp compris entre 1,3% et 7,4%.

Les figures 7 et 8 illustrent les résultats individuels obtenus en fonction de la trousse utilisée. Lorsque les résultats sont exprimés en UI/l, aucune différence significative n'est notée. L'écart entre la médiane des trouses est faible (3,1%).

Le passage en MoM augmente cet écart (9,1%) et les résultats exprimés en MoM diffèrent significativement selon le réactif utilisé (test de Kruskal-Wallis, $p < 0,0001$).

tableau X : Résultats obtenus pour l'hCG β (résultats exprimés en UI/l).

Réactifs	Code	N	Mediane	R (%)	CVnp (%)
toutes techniques		25	51,90	100,0	3,64
Delfia/ Auto Delfia/ Delfia Xpress BhCG libre	KC	8	52,65	101,4	7,32
Delfia/ Auto Delfia hAFP/Free BhCG dual	KD	5	51,00	98,3	1,31
Kryptor BhCG libre	KN	12	51,65	99,5	4,05

tableau XI : Résultats obtenus pour l'hCG β (résultats exprimés en MoM).

Réactifs	Code	N	Mediane	R (%)	CVnp (%)
toutes techniques		25	3,68	100,0	7,15
Delfia/ Auto Delfia/ Delfia Xpress BhCG libre	KC	8	3,58	97,3	7,40
Delfia/ Auto Delfia hAFP/Free BhCG dual	KD	5	3,48	94,6	1,28
Kryptor BhCG libre	KN	12	3,82	103,7	4,61

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'hCGβ (UI/l) lors de l'opération 09T211.

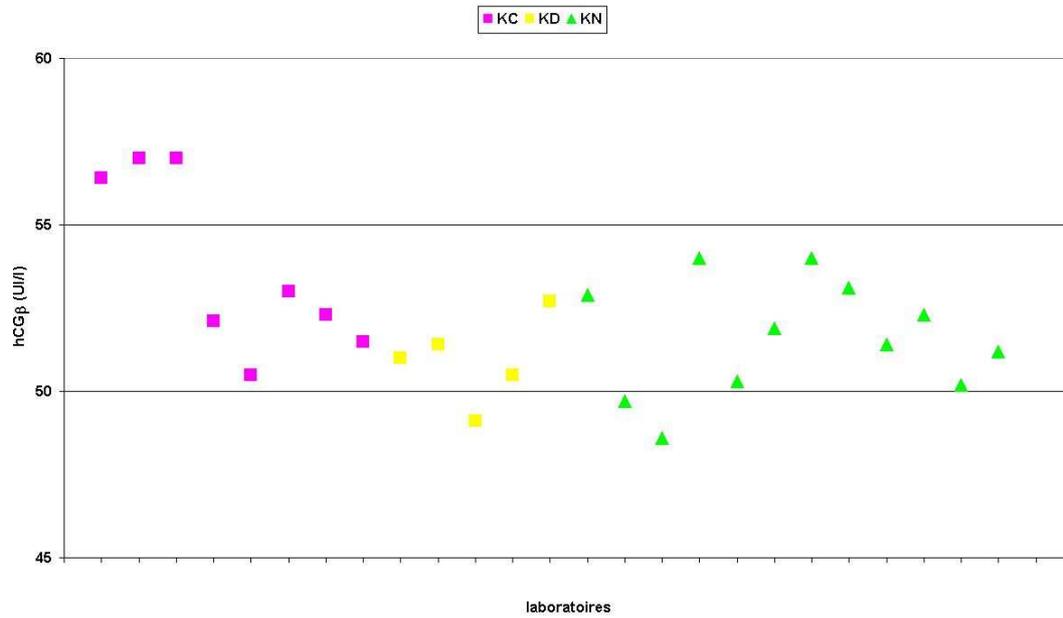
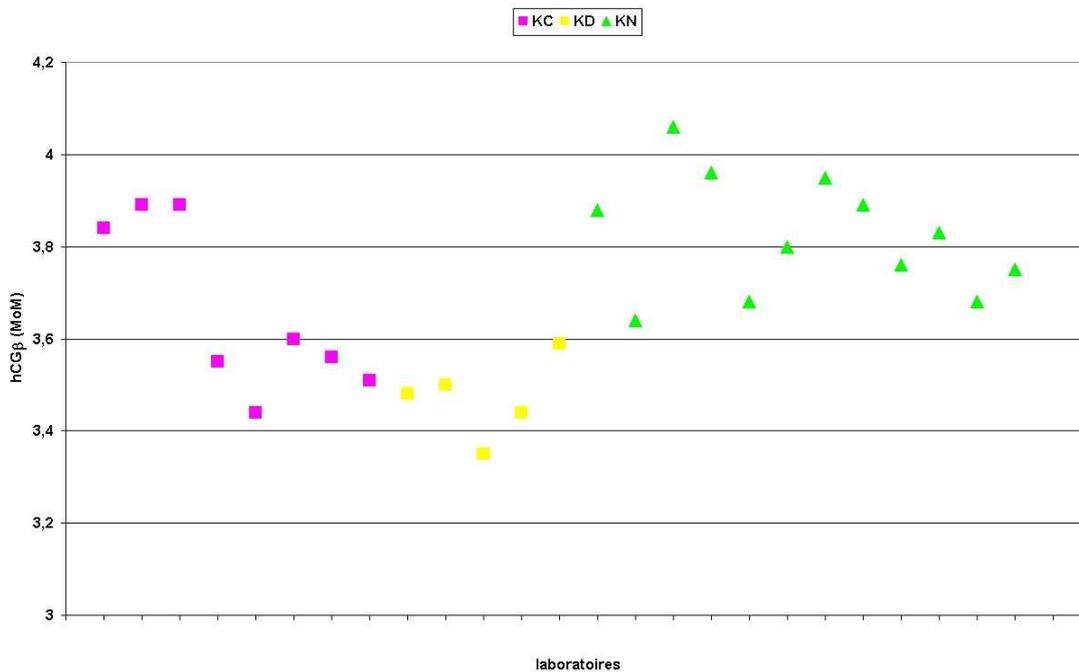


figure 8 : Résultats individuels obtenus pour l'hCGβ (MoM) lors de l'opération 09T211.



Code	trousse, distributeur
KC	DELFI A / AutoDELFI A, PERKIN ELMER
KD	DELFI A / AutoDELFI A Dual AFP/β-hCG dual, PERKIN ELMER
KN	Kryptor, BRAHMS France

4- Estriol libre

Le dosage de l'estriol libre a été effectué par 8 laboratoires soit 10,4% des participants. Les résultats concernant le dosage de l'estriol libre sont donnés dans le tableau XII. Une seule trousse est utilisée, la trousse Delfia PERKIN [KC]. La dispersion inter-laboratoire des résultats bruts est correcte (CVnp : 6,6%). La transformation des résultats en MoM ne modifie pas la dispersion (CVnp : 7,6%).

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

Réactifs	Code	N	Médiane	CVnp (%)
Delfia/Auto Delfia/Delfia Xpress uE3 PERKIN ELMER	KC	Résultats en nmol/l		
		8	2,80	6,62
		Résultats en MoM		
		8	0,87	7,63

N: nombre de résultats

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

5- Calcul du risque de trisomie à mi-terme et interprétation des résultats

Lors de l'opération 09T211, le risque calculé médian « tous systèmes analytiques » confondus est de 1/78 et l'interprétation consensus est : « la patiente appartient à un groupe à risque accru de trisomie 21 », complétée par le commentaire « la patiente n'appartient pas à un groupe à risque accru de défaut de fermeture du tube neural » (tableau XIII). Rappelons que l'interprétation du risque calculé pour la patiente s'effectue par rapport à un seuil fixé à 1/250 au moment du dosage. De plus, une élévation sérique de l'AFP au-delà du seuil consensuel de 2,5 MoM (consensus du congrès de médecine fœtale, Morzine 2005) doit amener à conclure : le risque de « défaut de fermeture du tube neural » est accru.

Tous les laboratoires ont calculé un risque supérieur à 1/250 et concluent « la patiente appartient à un groupe à risque accru de trisomie 21 » quels que soient la procédure et le système de dosage utilisés (tableau XIV et figure 9). De même, 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 ». Bien que la procédure utilisée n'influe pas sur la conclusion donnée, le risque calculé par les laboratoires dosant l'hCG β et l'AFP est plus fort (différence significative), ce qui est sans doute lié à la libération artéfactuelle de fraction β libre lors de la fabrication de l'échantillon. Enfin pour les laboratoires dosant hCG et AFP, le risque calculé par les utilisateurs du système Immulite est significativement plus faible et la dispersion des résultats plus grande (figure 9).

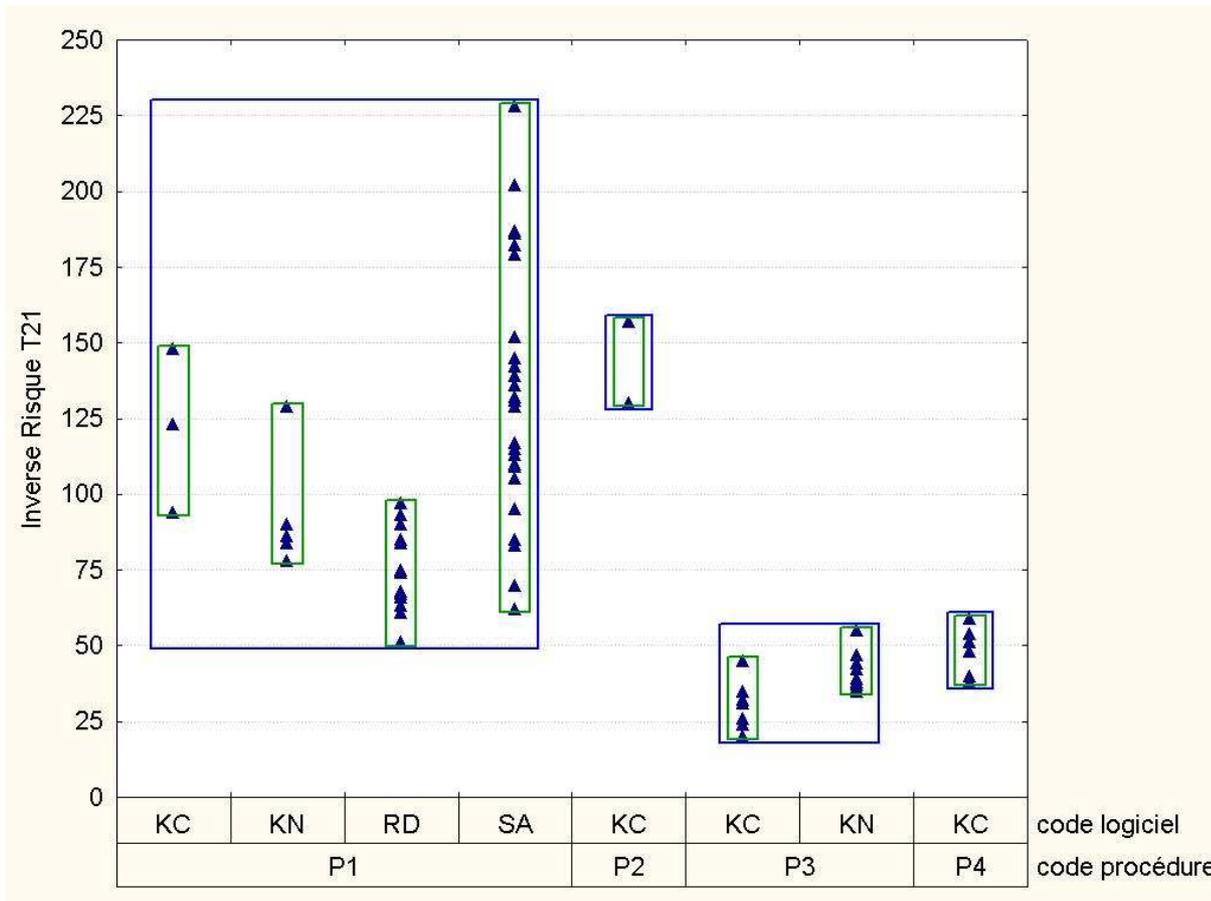
tableau XIII : Résultat du calcul de risque « tous systèmes analytiques » confondus et interprétation consensus lors de l'opération 09T211.

Echantillon	Risque calculé médian	Interprétation consensus	Nb de laboratoires en accord avec l'interprétation consensus
09TA	1/78	La patiente appartient à un groupe à risque accru de trisomie 21	77/77

tableau XIV : Risques calculés médians selon les marqueurs et les procédures de dosage utilisés lors de l'opération 09T211.

Echantillon	Procédure	Trousse, Distributeur	Risque calculé médian
09TA	AFP, hCG	DELFLIA / AutoDELFLIA, PERKIN ELMER	1/123
		Kryptor, BRAHMS France	1/88
		Elecsys, ROCHE DIAGNOSTIC	1/68
		Immulite, SIEMENS	1/130
	AFP, hCG et estriol libre	DELFLIA / AutoDELFLIA, PERKIN ELMER	1/143
	AFP et hCG β	DELFLIA / AutoDELFLIA, PERKIN ELMER	1/31
		Kryptor, BRAHMS France	1/37
	AFP, hCG β et estriol libre	DELFLIA / AutoDELFLIA, PERKIN ELMER	1/49

figure 9 : Résultats individuels obtenus pour l'inverse du risque calculé lors de l'opération 09T211 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.



Code Procédure	Paramètres dosés	Code logiciel	Logiciels, Distributeurs
P1	AFP, hCG	KC	Lifecycle, PERKIN ELMER
P2	AFP, hCG, estriol libre	KN	Cis line Prenat'screen, BRAHMS France
P3	AFP, hCG β	RD	Santosha, ROCHE DIAGNOSTIC
P4	AFP, hCG β , estriol libre	SA	Prisca, SIEMENS

09T212

Echantillon 09TB

Résultats des participants

1- AFP

Les résultats concernant le dosage de l'AFP sont donnés dans les tableaux XV et XVI. Le dosage de l'AFP est effectué par 79 laboratoires. Un résultat aberrant (1,7 MoM) a été exclu des calculs statistiques. La dispersion inter-laboratoires intra-réactif est acceptable, avec pour les résultats rendus en kUI/l, des CVnp compris entre 2,4 et 7,0%. Des résultats équivalents sont obtenus après transformation des résultats en MoM (CVnp compris entre 2,5 et 7,1%).

Les figures 10 et 11 illustrent les résultats individuels en fonction de la trousse de réactif utilisée. Les résultats exprimés en kUI/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 KRYPTOR BRAHMS [KN]) et la médiane de la trousse donnant les résultats les plus bas (trousse Delfia PERKIN ELMER [KC]) est de 8,5%. Après transformation des résultats en MoM, les résultats ne sont plus réactif-dépendants et l'écart entre la médiane des trouses donnant les résultats les plus hauts (trousse KRYPTOR BRAHMS [KN] et Immulite SIEMENS) et la médiane de la trousse donnant les résultats les plus bas : trousse Delfia PERKIN ELMER [KC] est atténué (4,4%).

tableau XV : Résultats obtenus pour l'AFP (résultats exprimés en kUI/l) lors de l'opération 09T212

Réactifs	Code	N	Mediane	R (%)	CVnp (%)
toutes techniques		79	31,90	100,0	5,81
Delfia /Auto Delfia /Delfia Xpress AFP	KC	16	30,70	96,2	3,14
Delfia/ Auto Delfia hAFP/Free BhCG dual	KD	4	31,55	98,9	2,70
Kryptor AFP	KN	17	33,40	104,7	2,44
Elecsys AFP	RD	15	32,00	100,3	4,63
Immulite / Imm. 2000/ Imm. 2500 AFP	SA	27	31,90	100,0	6,97

tableau XVI : Résultats obtenus pour l'AFP (résultats exprimés en MoM) lors de l'opération 09T212.

Réactifs	Code	N	Mediane	R (%)	CVnp (%)
toutes techniques		78	1,03	100,0	3,78
Delfia /Auto Delfia /Delfia Xpress AFP	KC	16	1,02	99,5	2,71
Delfia/ Auto Delfia hAFP/Free BhCG dual	KD	4	1,03	100,0	4,96
Kryptor AFP	KN	17	1,04	101,0	2,49
Elecsys AFP	RD	14	1,00	96,6	4,66
Immulite / Imm. 2000/ Imm. 2500 AFP	SA	27	1,04	101,0	7,13

Un résultat aberrant a été exclu des calculs statistiques.

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 10 : Résultats individuels obtenus pour l'AFP (kUI/l) lors de l'opération 09T212.

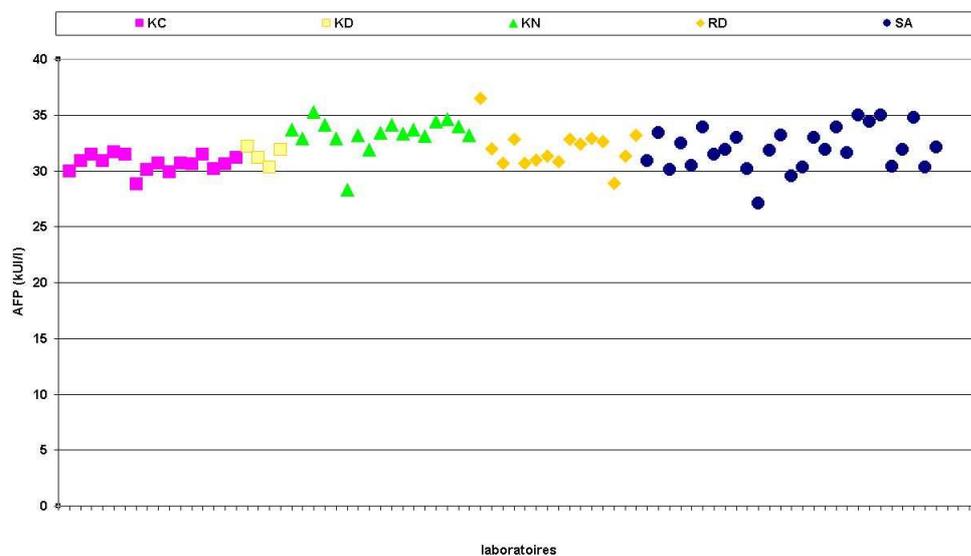
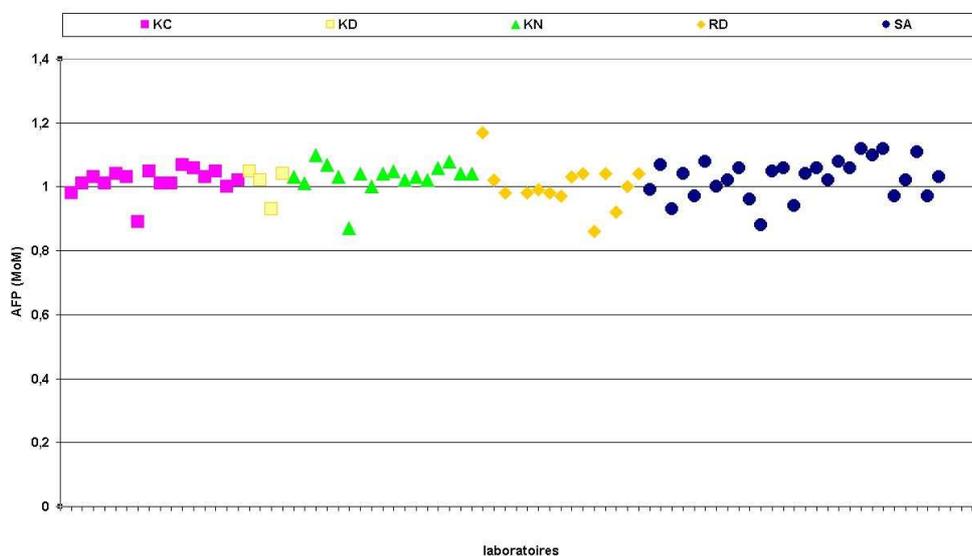


figure 11 : Résultats individuels obtenus pour l'AFP (MoM) lors de l'opération 09T212 (un résultat aberrant a été exclu et n'est pas représenté).



Code	trousse, distributeur
KC	DELFI A / AutoDELFI A, PERKIN ELMER
KD	DELFI A / AutoDELFI A Dual AFP/ β -hCG dual, PERKIN ELMER
KN	Kryptor, BRAHMS France
RD	Elecsys, ROCHE DIAGNOSTIC
SA	Immulinite, SIEMENS

2- hCG

Le dosage de l'hCG a été effectué par 52 laboratoires soit 65,8% des participants. Les résultats concernant le dosage de l'hCG sont donnés dans les tableaux XVII et XVIII. Les trousse les plus utilisées sont les mêmes que lors de l'opération 09T211. La dispersion inter-laboratoires intra-réactif des résultats rendus en UI/l est acceptable avec des CVnp compris entre 2,0% et 11,0% (tableau XVII). Certains laboratoires n'ayant pas tenu compte du facteur tabac, oubli ou utilisation d'un logiciel ne permettant pas cette prise en compte, la transformation des résultats en MoM accroît la dispersion inter-laboratoires intra-réactif.

Les figures 12 et 13 illustrent les résultats individuels obtenus en fonction de la trousse 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 (Immulite SIEMENS [SA]) et celle donnant les résultats les plus bas (Elecys ROCHE [RD]) est de 9,9%.

Les résultats exprimés en MoM sont réactif-indépendants (test de Kruskal-Wallis, non significatif). Après calcul des MoM, l'écart entre la médiane de la trousse donnant les résultats les plus hauts (Elecys ROCHE [RD]) et celle donnant les résultats les plus bas (Immulite SIEMENS [SA]) est de 11,3%.

tableau XVII – Résultats obtenus pour l'hCG (résultats exprimés en UI/l).

Réactifs	Code	N	Mediane	R (%)	CVnp (%)
toutes techniques		52	30465	100,0	9,10
Delfia/ Auto Delfia hCG	KC	4	30470	100,0	3,16
Kryptor hCG + bêta	KN	6	30190	99,1	2,04
Elecys hCG	RD	15	28752	94,4	10,68
Immulite/ Imm. 2000/ Imm. 2500 hCG	SA	27	31765	104,3	11,02

tableau XVIII – Résultats obtenus pour l'hCG (résultats exprimés en MoM).

Réactifs	Code	N	Mediane	R (%)	CVnp (%)
toutes techniques		52	1,42	100,0	11,83
Delfia/ Auto Delfia hCG	KC	4	1,51	106,3	3,43
Kryptor hCG + bêta	KN	6	1,46	102,5	14,22
Elecys hCG	RD	15	1,54	108,1	18,29
Immulite/ Imm. 2000/ Imm. 2500 hCG	SA	27	1,38	96,8	10,74

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 (UI/l) lors de l'opération 09T212.

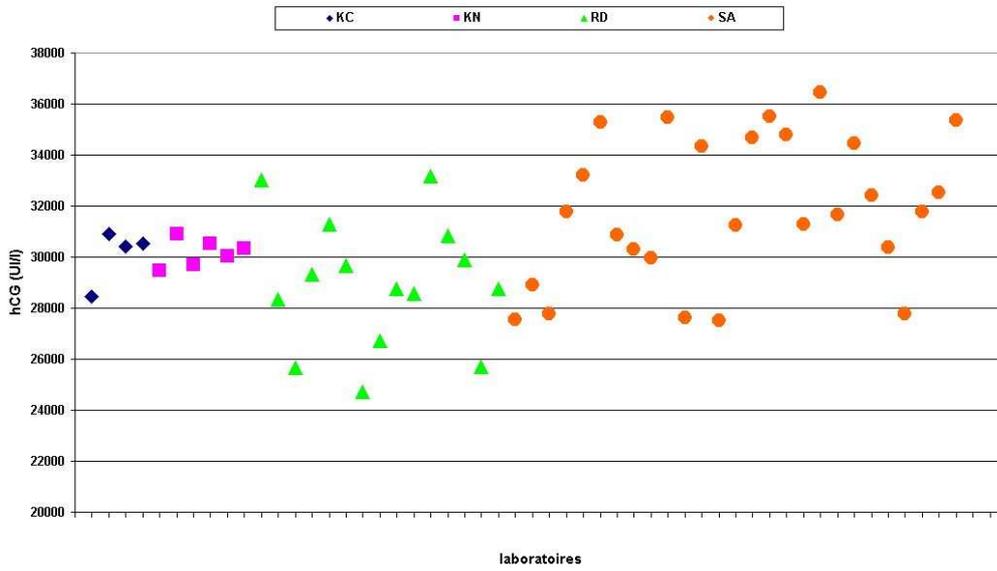
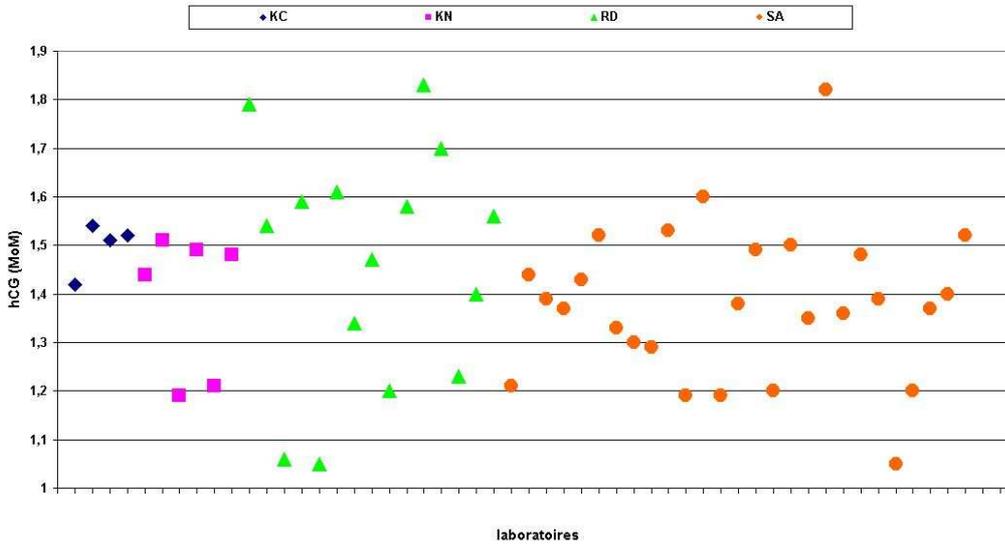


figure 13 – Résultats individuels obtenus pour l'hCG (MoM) lors de l'opération 09T212.



Code	trousse, distributeur
KC	DELFLIA / AutoDELFLIA, PERKIN ELMER
KN	Kryptor, BRAHMS France
RD	Elecsys, ROCHE DIAGNOSTIC
SA	Immulite, SIEMENS

3- hCG β

Le dosage de l'hCG β a été effectué par 27 laboratoires soit 34,2% des participants. Un résultat aberrant (18,8 UI/l) a été exclu des calculs statistiques. Les résultats concernant le dosage de l'hCG α sont donnés dans les tableaux XIX et XX. De même que pour l'opération 09T211, la dispersion inter-laboratoires intra-réactif des résultats bruts est correcte, avec des CVnp compris entre 2,1% et 7,1% (tableau XIX). Après transformation des résultats en MoM, la dispersion inter-laboratoires intra-réactif est augmentée pour 2 réactifs : Delfia dual PERKIN [KD] et Kryptor BRAHMS [KN]. Lors de l'opération 09T212 les utilisateurs BRAHMS disposaient de deux logiciels : Cis line Prenat'screen et Fast screen Pré II. Le logiciel Cis line Prenat'screen en voie de remplacement par le logiciel Fast screen ne permet pas la prise en compte du facteur tabac pour le calcul de risque, les résultats en MoM rendus par le logiciel Cis line Prenat'screen sont donc inférieurs de 20% par rapport à ceux rendus par le logiciel Fast screen Pré II. Pour le logiciel Lifecycle, PERKIN, c'est la coexistence de deux versions différentes du logiciel utilisant des modes de calcul différents qui contribue à accroître la dispersion.

Les figures 14 et 15 illustrent les résultats individuels obtenus en fonction de la trousse utilisée. Les résultats exprimés en UI/l et après transformation en MoM ne diffèrent pas selon la trousse utilisée (test de Kruskal Wallis non significatif). Lorsque les résultats sont exprimés en UI/l, l'écart entre la médiane de la trousse donnant le résultat le haut et celle donnant le résultat le plus bas est modéré (9,6%).

Le passage en MoM n'augmente pas cet écart (10%).

tableau XIX : Résultats obtenus pour l'hCG β (résultats exprimés en UI/l).

Réactifs	Code	N	Mediane	R (%)	CVnp (%)
toutes techniques		26	15,10	100,0	5,52
Delfia/ Auto Delfia/ Delfia Xpress BhCG libre	KC	12	15,70	104,0	7,08
Delfia/ Auto Delfia hAFP/Free BhCG dual	KD	4	14,25	94,4	2,08
Kryptor BhCG libre	KN	10	15,15	100,3	3,43

Un résultat aberrant a été exclu des calculs statistiques.

tableau XX : Résultats obtenus pour l'hCG β (résultats exprimés en MoM).

Réactifs	Code	N	Mediane	R (%)	CVnp (%)
toutes techniques		27	1,26	100,0	9,41
Delfia/ Auto Delfia/ Delfia Xpress BhCG libre	KC	12	1,27	101,2	5,96
Delfia/ Auto Delfia hAFP/Free BhCG dual	KD	4	1,18	94,0	9,86
Kryptor BhCG libre	KN	11	1,31	104,0	10,75

N : nombre de résultats.

R : rapport entre la médiane par trousse et la médiane tous réactifs confondus.

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

figure 14 : Résultats individuels obtenus pour l'hCGβ (UI/l) lors de l'opération 09T212.

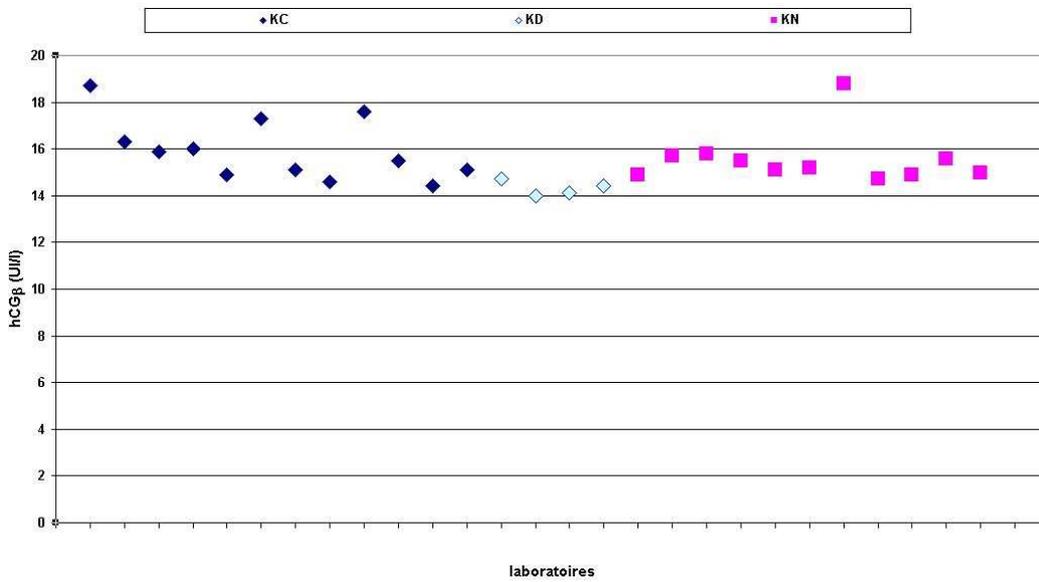
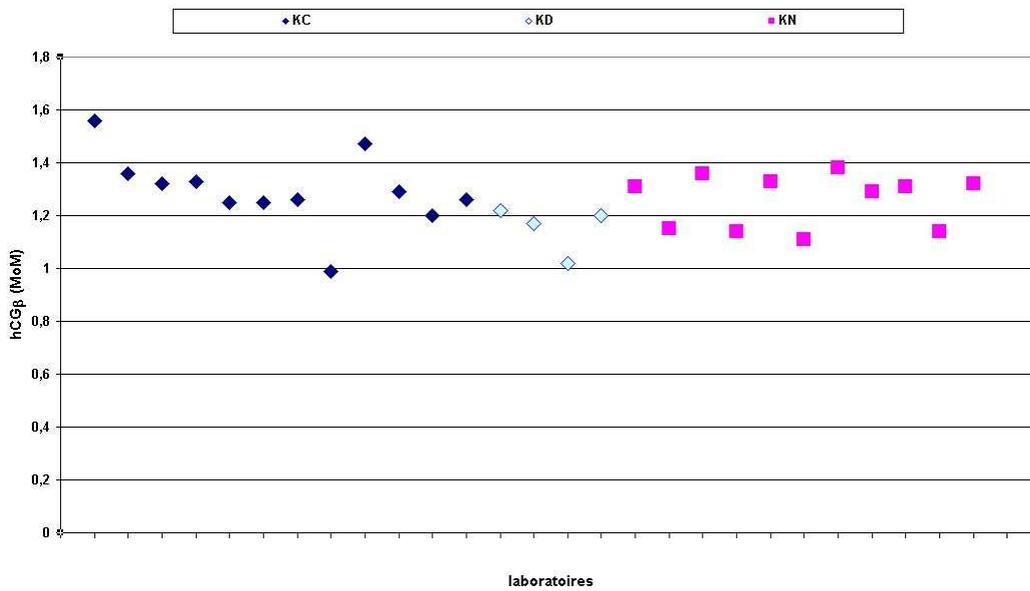


figure 15 : Résultats individuels obtenus pour l'hCGβ (MoM) lors de l'opération 09T212.



Code	trousse, distributeur
KC	DELFLIA / AutoDELFLIA, PERKIN ELMER
KD	DELFLIA / AutoDELFLIA Dual AFP/β-hCG dual, PERKIN ELMER
KN	Kryptor, BRAHMS France

4- Estriol libre

Le dosage de l'estriol libre a été effectué par 7 laboratoires soit 8,9% des participants. Les résultats concernant le dosage de l'estriol libre sont donnés dans le tableau XXI. Une seule trousse est utilisée, la trousse Delfia PERKIN ELMER [KC]. La dispersion inter-laboratoires des résultats bruts et des résultats en MoM est correcte (CVnp : 12,4% et 11,8% respectivement).

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

Réactifs	Code	N	Médiane	CVnp (%)
Delfia/Auto Delfia/Delfia Xpress uE3 PERKIN ELMER	KC	Résultats en nmol/l		
		7	3,60	12,4
		Résultats en MoM		
		7	1,13	11,8

N: nombre de résultats

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

5- Calcul du risque de trisomie à mi-terme et interprétation des résultats

Lors de l'opération 09T212, le cas clinique simulait une patiente présentant une imprégnation tabagique. L'influence de ce facteur sur le calcul de risque était étudiée pour la première fois lors d'une opération du Contrôle National Qualité. Le risque calculé médian « tous systèmes analytiques » confondus était de 1/461 et l'interprétation consensus : « la patiente n'appartient pas à un groupe à risque accru de trisomie 21 » complétée du commentaire « la patiente n'appartient pas à un groupe à risque accru de défaut de fermeture du tube neural » (tableau XXII).

Soixante douze 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 ». Sept laboratoires calculent un risque supérieur à 1/250 et concluent logiquement à l'inverse « la patiente appartient à un groupe à risque accru de trisomie 21 ». Pour ces 7 laboratoires, tous utilisateurs du système ROCHE Elecsys, les résultats d'hCG exprimés en MoM sont parmi les plus élevés.

Lors de cette opération, les résultats du calcul de risque présentaient une dispersion importante (de 1/129 à 1/1100). Cette dispersion est en partie liée à des erreurs grossières (erreurs de transcription, inversion des résultats ...) et à la non prise en compte du facteur tabac (oubli du laboratoire ou utilisation d'un logiciel ne permettant pas cette prise en compte : Cis line Prenat'screen , BRAHMS).

On note également l'influence de la procédure. En effet, le risque calculé par les laboratoires dosant l'hCG β et l'AFP est plus faible 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).

Enfin la coexistence pour un même logiciel (Lifecycle, PERKIN) de différentes versions utilisant des facteurs correctifs différents accroît également la dispersion au sein d'un même groupe d'utilisateurs (figure 16).

Concernant le risque de non fermeture du tube neural, tous les laboratoires ont donné la conclusion consensus.

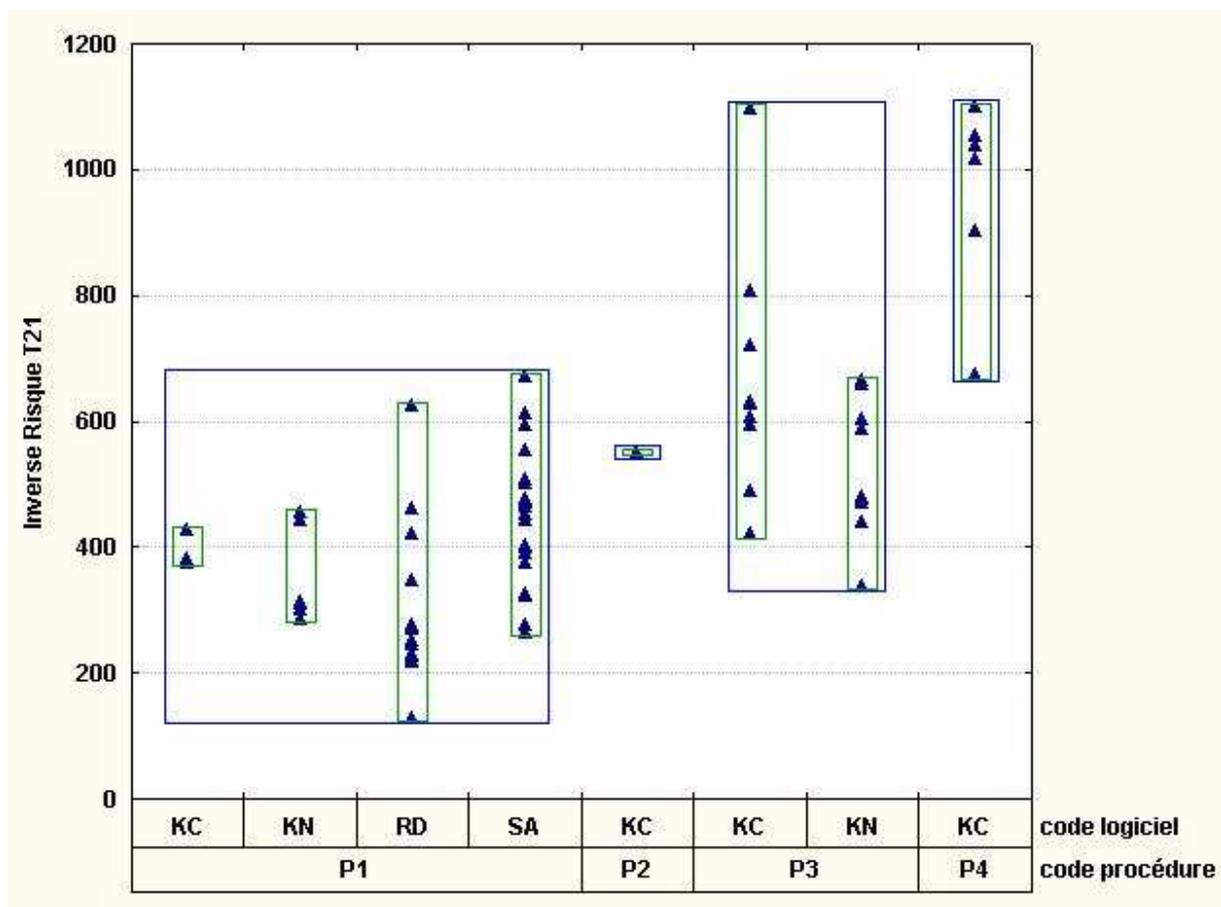
tableau XXII : Résultat du calcul de risque tous « systèmes analytiques » confondus et interprétation consensus lors de l'opération 09T212.

Echantillon	Risque calculé médian	Interprétation consensus	Nb de laboratoires en accord avec l'interprétation consensus
09TB	1/461	la patiente n'appartient pas à un groupe à risque accru de trisomie 21	72/79

tableau XXII : Risques calculés médians et interprétations données lors de l'opération 09T212 selon les marqueurs et les systèmes de dosages utilisés.

Echantillon	Procédure	Système de dosage, Distributeur	Risque calculé médian
09TB	AFP, hCG (P1)	DELFIA / AutoDELFIA, PERKIN ELMER	1/428
		Kryptor, BRAHMS France	1/311
		Elecsys, ROCHE DIAG	1/252
		Immulite, SIEMENS	1/466
	AFP, hCG et estriol libre (P2)	DELFIA / AutoDELFIA, PERKIN ELMER	1/550
	AFP et hCG β (P3)	DELFIA / AutoDELFIA, PERKIN ELMER	1/629
		Kryptor, BRAHMS France	1/478
AFP, hCG β et estriol libre (P4)	DELFIA / AutoDELFIA, PERKIN ELMER	1/1028	

figure 16 : Résultats individuels obtenus pour l'inverse du risque calculé lors de l'opération 09T212 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.



Code Procédure	Paramètres dosés	Code logiciel	Logiciels, Distributeurs
P1	AFP, hCG	KC	Lifecycle, PERKIN ELMER
P2	AFP, hCG, estriol libre	KN	Cis line Prenat'screen et Fast screen Pré II, BRAHMS France
P3	AFP, hCG β	RD	Santosha, ROCHE DIAG.
P4	AFP, hCG β , estriol libre	SA	Prisca, SIEMENS

Conclusion générale

En 2009, les évolutions techniques commencées en 2007 se poursuivent, les systèmes ACS: 180 et ADVIA Centaur SIEMENS ne sont plus utilisés. On note l'apparition pour BRAHMS d'un nouveau logiciel Fast screen Pré II et pour PERKIN ELMER d'une nouvelle version (3.1) du logiciel Lifecycle.

Comme en 2006, 2007 et 2008, la précision analytique des différentes troupes de dosages est bonne pour tous les paramètres avec des CVnp presque toujours inférieurs à 10% pour les résultats bruts malgré des effectifs faibles.

Le profil des marqueurs sériques des deux échantillons envoyés aux laboratoires agréés, se situait en termes de calcul de risque de part et d'autre de la valeur seuil. Dans les 2 cas, tous les laboratoires ont commenté de façon logique le résultat, rendant une conclusion cohérente en regard du résultat.

De plus, tous les laboratoires ont commenté le résultat d'AFP et ont donné la conclusion consensus souhaitée.

L'un des objectifs 2009 du contrôle national de qualité des marqueurs sériques maternels de la trisomie 21 était de contrôler un des facteurs intervenant dans le calcul de risque : le tabagisme maternel. L'opération 09T212 a souligné l'importance de la prise en compte de ce facteur dans le calcul de risque du dépistage de risque trisomie 21. Rappelons que l'impact du poids maternel avait été étudié en 2008 (cf. annales 2008). La non prise en compte du facteur tabac par certains laboratoires (oubli du laboratoire ou utilisation d'un logiciel ne permettant pas cette prise en compte comme Cis line Prenat'screen, BRAHMS) a eu pour conséquence une hétérogénéité des résultats d'hCG et d'hCGβ exprimés en MoM et un accroissement de la dispersion du calcul de risque.

Par ailleurs, fin 2009, les industriels ont mis en place les versions des logiciels permettant le dépistage au premier trimestre. Lors de l'opération 09T212, la coexistence de plusieurs versions d'un même logiciel a également contribué à augmenter la variabilité du calcul de risque.

Les résultats 2009 du Contrôle National de Qualité des marqueurs sériques maternels de la trisomie 21 sont cependant globalement satisfaisants.