



Journée ABA du 15 juin 2016

**STABILITE PREANALYTIQUE DES
MARQUEURS SERIQUES
du dépistage de la trisomie 21
hCG β et PAPP-A**

Par le Docteur Béatrice VEYRAT
Laboratoire Médilys



FINALITE

Ecrire un article

= référence utile pour définir les conditions pré-analytiques

= répondre aux exigences du paragraphe 5.4 de la norme NF EN ISO 15189 (2012)



RAPPELS

Sang maternel

- quantité importante d'hCG total
($\approx 50\ 000$ UI/L)
- quantité faible de sa fraction libre hCG β
(100 UI/L)

Mauvaise conservation = dégradation de l'hCG

- Augmentation de la fraction libre
- Incidence sur le calcul de risque



RAPPELS

But

- Connaitre la stabilité avant centrifugation et après centrifugation de l'hCG β
- Et en même temps, étude de la PAPP-A
(molécule moins fragile?)



DONNEES FOURNISSEURS

	Durée de conservation avant centrifugation	Durée de conservation du sérum à 2-8°C après centrifugation
PerkinElmer hCG β PAPP-A	Non précisée Non précisée	15 jours 6 jours
Roche hCG β PAPP-A	8 heures 8 heures	7 jours 3 jours
Siemens hCG β PAPP-A	Non précisée Non précisée	7 jours 24 heures
ThermoFisher hCG β PAPP-A	6 heures Non précisée	24 heures 24 heures

Recommandations des 4 fabricants autorisés par l'ANSM pour réaliser le dépistage sérique maternel de la trisomie 21.

→ Données hétérogènes



DONNEES PUBLICATIONS

Année de publication, Auteur	Durée de conservation à 15-20°C avant centrifugation	Durée de conservation à 4°C après centrifugation
2003, Spencer et al. hCG β PAPP-A	24 heures Non renseignée	16 semaines Non renseignée
2010, Cowans et al. hCG β PAPP-A	Non renseignée Non renseignée	94 jours 60 jours
2010, Cruz et al. hCG β PAPP-A	2 jours 3 jours	8 jours 8 jours
2011, Lambert-Messerlian et al. hCG β PAPP-A	Non renseignée Non renseignée	4 semaines Non renseignée
2014, Gebeile et al. hCG β PAPP-A	Non renseignée Non renseignée	72 heures 24 heures

Données concernant la stabilité de l'hCG β et de la PAPP-A en sang total à 15-20°C et après centrifugation à 4°C.

→ Variations très importantes



ETUDE DE STABILITE

- Conservation des marqueurs hCG β et PAPP-A
 - en sang total
 - à 15 - 25°C
 - avant centrifugation
- Stabilité des marqueurs
 - à 4 - 8°C
 - après centrifugation



MATERIEL ET METHODE

Automates	Logiciels	Laboratoires	Stabilité Sang total	Stabilité Sérum 4-8°C
Cobas 8000 e602 Roche	Ssdwlab6	Oriade Grenoble	58 patientes	/
Delfia Xpress Perkin Elmer	LifeCycle 3.2	Médilys Lons le Saunier	100 patientes	30 patientes



MATERIEL ET METHODE

Patiente prélevée

- 4 tubes de sang sur tube à gel (BD)
- Conservés à 15-25°C
- Centrifugés chacun respectivement
2h / 4h / 6h / 8h après l'heure de prélèvement

Centrifugation

- Selon les recommandations fournisseur



MATERIEL ET METHODE

Dosages

- Dans la même série
- Le lendemain
- Encadrés par des CIQ

Stabilité dans le temps

- Le tube centrifugé 4 heures après le prélèvement est redosé à 3j et 5j



METHODE DE CALCUL

Résultats exprimés en valeur brute et en moM

- Coefficients de variation de la fidélité intermédiaire de chacun des marqueurs pour chacune des techniques grâce aux CIQ
- Elimination des variations inter-individus par définition des variations relatives

$$\text{Rapport} = (C_r - C_2) / C_2$$

C_2 = Concentration du marqueur à 2h

C_r = Concentration du marqueur à 4h, 6h, 8h



METHODE DE CALCUL

- Estimation que le phénomène de dégradation entre les différentes heures soit suffisamment lent pour que la variation des concentrations en fonction du temps puisse être considérée comme linéaire.

- Application d'une régression linéaire

$$Rap = f(T)$$



METHODE DE CALCUL

- Concentrations toutes rapportées au temps 2 heures (temps de base)
- Test de Student pour comparer les pentes de régression



RESULTATS

- Stabilité sur sang total
- Mêmes résultats entre Roche et Perkin
- ↗ de 0,3% par heure pour l'hCG β
- ↗ de 0,06% par heure pour la PAPP-A



RESULTATS

Incidence sur le calcul

↗ de l'hCG β = ↗ du risque calculé dont l'amplitude dépend de la valeur initiale du marqueur

⇒ peut atteindre environ 15%

A 8 h ↗ moyenne hCG β = 2,4% (maximum 2,89%)

↗ moyenne PAPP-A = < 1%



STABILITE DES MARQUEURS SERIQUES CONSERVES A 4-8°C

Au bout de 4 à 5 jours

- hCG β augmente en moyenne de 3,36% à 4,2%
- PAPP-A reste stable



CONCLUSION

ETAPE	PRECONISATION
Prélèvement	Sang veineux Patiente à jeun ou non Tube sec avec ou sans gel séparateur
Centrifugation et décantation si absence de gel séparateur	Délai maximum de 8 heures après prélèvement
Conservation des sérums	à température 15 – 25°C : maximum 8 heures à température 2 – 8°C : maximum 5 jours

Recommandations pré-analytiques pour le dépistage sérique maternel de la trisomie 21 au premier trimestre de la grossesse (hCG β et PAPP-A)



CONCLUSION

L'incidence de l'augmentation de 2,4% de l'hCG β peut avoir un impact sur le calcul du risque de 15 à 20% en fonction de la valeur initiale de l'hCG β et de la valeur des autres facteurs intervenants dans le calcul du risque (âge maternel, LLC et CN).



L'impact clinique concerne de rares cas (vers le seuil décisionnel 1/250)



ARTICLE EN COURS DE PUBLICATION « ABC »

«Stabilité pré-analytique des marqueurs sériques maternels hCG β et PAPP-A du dépistage de la trisomie 21 au premier trimestre de la grossesse»

Béatrice Veyrat¹, François Tosetti², Jean-François Morin³, Marie-Pierre Moineau⁴, Andrée Piedimonte¹, Patrice Clément⁵, Sophie Dreux⁶, Françoise Muller^{6,7}

1. LBM Médilys, Lons le Saunier, France

2 LBM Oriade – Noviale, Meylan, France

3. Laboratoire de Biostatistiques et d'Informatique Médicale, Faculté de médecine, Brest, France

4. Biochimie et pharmacologie Toxicologie, CHRU, Hôpital de la Cavale Blanche, Brest

5. Laboratoire Clémant, Le Blanc-Mesnil, France

6. Biochimie-Hormonologie, Hôpital Robert Debré, APHP, Paris, France

7. Biochimie, Université Versailles Saint-Quentin



REMERCIEMENTS

- Techniciennes :
A. Seroz
K. Plathey
M. Dufour
C. Gomis
- Sociétés Roche et Perkin Elmer
- Et un grand merci à
J.F. Morin
M.P. Moineau
A. Piedimonte
P. Clément
S. Dreux
et à Françoise