

# Annales du contrôle national de qualité des analyses de biologie médicale

<b>hGH – PTH – 25 OH Vitamine D</b>	<b>15GPV1</b>	<b>octobre 2015</b>
-------------------------------------	---------------	---------------------

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

**mars 2017**

Michèle NOEL (ANSM)  
Monique LEBAN (Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris)

Opération	<b>15GPV1</b>
Expédition	14/10/2015
Clôture	9/11/2015
Edition des comptes-rendus individuels	3/02/2016
Paramètres contrôlés Echantillons envoyés	hGH, PTH, 25 OH Vitamine D GH208, GH209, PTH151, PTH152, VITD151, VITD152
Nombre de laboratoires concernés*	753
Nombre de laboratoires participants**	736

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

\*\* Laboratoires ayant saisi leurs résultats sur internet avant la date de clôture de l'opération.

## Résumé de l'opération

En 2015, une opération de contrôle de qualité portant sur le dosage de l'hormone de croissance (hGH), de la parathormone (PTH) et de la 25 OH vitamine D a été réalisée. Les laboratoires concernés ont largement participé (participation de 97,7%).

Lors de cette opération, réalisée en novembre 2015, les échantillons envoyés pour contrôler l'hGH (GH208 et GH209) étaient des pools lyophilisés de sérums natifs. Les échantillons envoyés pour contrôler la PTH étaient issus d'un pool lyophilisé de sérums surchargé avec le standard international SI 95/646 (PTH151 et PTH152). Les échantillons permettant de doser la 25 OH vitamine D étaient constitués d'un pool sérique natif sans surcharge (VITD151) et d'un pool sérique surchargé en 25 OH vitamine D2 (VITD152).

Concernant l'hGH, en 2015, les résultats obtenus ont confirmé une relative stabilisation des discordances inter-techniques.

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

Concernant la 25 OH vitamine D, la dispersion inter-laboratoires inter-techniques des résultats obtenus est importante. De plus, pour quelques trousseaux ou techniques, la dispersion inter-laboratoires intra-technique est améliorable.

# hGH

## Echantillons GH208 – GH209

### Méthode statistique et expression des résultats

Le traitement statistique des données comporte plusieurs étapes :

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

### Définition des échantillons

Deux échantillons lyophilisés ont été envoyés lors de l'opération 15 GPV1. Ils ont été fabriqués à partir de pools sériques natifs non surchargés.

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

En 2015, la concentration des échantillons se situait d'une part à une valeur proche du seuil utilisé pour définir le déficit en hGH chez l'enfant (GH209) et d'autre part, à une valeur basse (GH208).

tableau I : résultats de l'étude de stabilité.

	GH208		GH209	
	résultat à T0	résultat à T48 heures	résultat à T0	résultat à T48 heures
Médiane (mUI/L)	2,6	2,7	20,3	21,4

### Réactifs utilisés

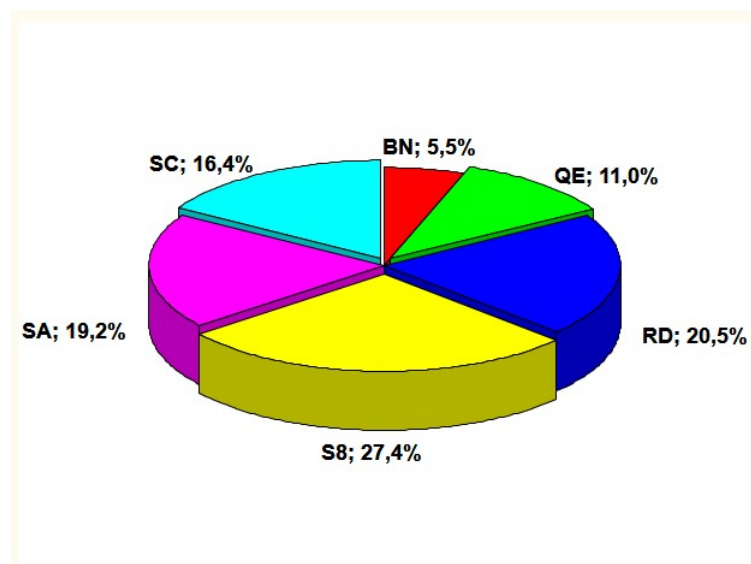
La répartition des trousse de réactifs utilisées lors de l'opération 15GPV1 est donnée dans le tableau II. La figure 1 illustre la répartition des trousse de dosage utilisées. Les 6 trousse utilisées sont toutes des techniques immunométriques à deux sites (méthode « sandwich ») qui utilisent :

- un traceur radioactif pour l'une d'entre elles : RIACT CISBIO [BN]
- un traceur non isotopique pour les cinq autres : Access BECKMAN [QE] ; Cobas ROCHE [RD] ; Immulite SIEMENS [SA] ; Isys IDS [SC] ; Liaison DIASORIN [S8]. Ces dernières sont automatisées.

Au total, 5,5% des laboratoires ayant dosé l'hGH lors de l'opération 15GPV1 utilisent encore une technique avec traceur radioactif, confirmant la diminution du nombre d'utilisateurs des techniques isotopiques amorcée depuis 2000.

En 2015, les trousse de réactif sont toutes standardisées sur le Standard International : SI 98/574, une préparation d'hGH recombinante (isoforme 22 kDa).

**figure 1** : répartition des trousse de dosage utilisées pour doser l'hGH lors de l'opération 15GPV1.



**tableau II** : réactifs utilisés pour doser l'hGH lors de l'opération 15GPV1.

Code	trousse, distributeurs	Nombre d'utilisateurs
BN	RIACT, Cisbio Bioassays	4
QE	Access, BECKMAN	8
RD	Cobas, ROCHE	15
S8	Liaison, DIASORIN	20
SA	Immulite, SIEMENS	14
SC	Isys, IDS	12

## Résultats des participants

Le dosage de cet analyte a été réalisé par 9,8% des participants. Le nombre de laboratoires ayant rendu des résultats est stable depuis 2012. Les principaux résultats statistiques concernant l'opération 15GPV1 sont donnés dans le tableau III et sur la figure 2.

Pour l'échantillon GH208 de concentration proche de 3 mUI/L (la médiane toutes techniques est de 2,8 mUI/L), un résultat aberrant a été exclu des calculs statistiques. Un léger accroissement de la dispersion inter-laboratoires inter-réactifs est noté par rapport aux résultats obtenus en 2013 (2013 : 14,6% versus 2015 : 16,5%). Les résultats diffèrent significativement selon la trousse utilisée (test de Kruskal Wallis,  $p < 0,0001$ ). La trousse Cobas ROCHE [RD] donne des résultats statistiquement plus hauts que ceux obtenus par les autres trousse.

L'écart entre la médiane de la trousse donnant les résultats les plus hauts Cobas ROCHE [RD] et celle donnant les résultats les plus bas Access BECKMAN [QE] est de 48% (expression en % par rapport à la médiane toutes techniques), sans modification en regard du résultat obtenu en 2013 (55%).

Les trousse utilisées présentent une précision correcte avec des CV inter-laboratoires intra-réactif proche de 5%. La valeur médiane des CV inter-laboratoires intra-réactif est de 5,0%, en amélioration par rapport au résultat de 2013 (7,4%).

De même, pour l'échantillon GH209 de concentration proche de 20 mUI/L, la dispersion inter-laboratoires inter-réactifs est stable par rapport aux résultats obtenus en 2014 (2014 : 11,3% versus 2015 : 11,0%).

Les résultats diffèrent significativement selon la trousse utilisée (test de Kruskal Wallis,  $p < 0,0001$ ). Les trousse Cobas ROCHE [RD] et Immulite SIEMENS [SA] donnent des résultats statistiquement plus hauts que ceux obtenus par les autres trousse. Bien que le raccordement métrologique de toutes les trousse soit maintenant effectué, un écart inter-technique d'environ 11% persiste sans doute en relation avec l'existence, pour certaines trousse, d'un effet matrice. En effet, si le milieu choisi par les industriels pour diluer la préparation internationale lors de l'étalonnage de leur trousse n'est pas du sérum, pour une concentration théorique donnée, les résultats mesurés peuvent différer de façon significative (jusqu'à 30% d'écart). Rappelons que pour cette raison la SFBC recommande aux industriels d'utiliser du sérum humain sans hGH pour diluer le standard international lors de leur nouvelle calibration.

Les trousse utilisées présentent une précision correcte avec des CV inter-laboratoires intra-réactif proches de 5%. La valeur médiane des CV inter-laboratoires intra-réactif est de 3,7%, stable en regard du résultat de 2014 (3,4%).

**tableau III** : résultats d'hGH obtenus lors de l'opération 15GPV1 (résultats exprimés en mUI/L).

code	distributeur	Réactif	N	Med (mUI/L)	R (%)	CVnp (%)	Min (mUI/L)	Max (mUI/L)	Mtr (mUI/L)	CVtr (%)
<b>GH208</b>										
		Toutes techniques	73	2,80	100	21,2	1,50	3,90	2,91	16,5
BN	CISBIO	hGH-RIACT	4	2,80	100	10,6	2,40	3,00	2,75	9,6
QE	BECKMAN COULTER	Access Ultrasensitive hGH	8	2,35	84	6,3	2,20	2,80	2,30	4,3
RD	ROCHE	Cobas hGH	15	3,70	132	2,0	3,40	3,90	3,68	3,0
S8	DIASORIN S.A.	Liaison hGH	20	2,55	91	5,8	1,50	2,80	2,54	5,9
SA	SIEMENS MED.SOL. DIAGN.	Immulite / Im. 2000-2000Xpi hGH	14	3,15	113	7,7	2,90	3,50	3,18	5,7
SC	IDS	hGH iSYS	12	2,80	100	4,6	2,60	3,00	2,80	4,3
<b>GH209</b>										
		Toutes techniques	73	22,20	100	16,2	12,60	28,60	22,70	11,0
BN	CISBIO	hGH-RIACT	4	21,55	97	6,9	21,00	24,10	22,05	6,5
QE	BECKMAN COULTER	Access Ultrasensitive hGH	8	19,55	88	5,3	17,80	22,70	19,85	7,2
RD	ROCHE	Cobas hGH	15	25,90	117	4,0	24,70	28,60	25,98	3,6
S8	DIASORIN S.A.	Liaison hGH	20	20,15	91	5,3	12,60	22,20	20,62	3,8
SA	SIEMENS MED.SOL. DIAGN.	Immulite / Im. 2000-2000Xpi hGH	14	24,85	112	3,8	23,70	28,20	24,79	2,8
SC	IDS	hGH iSYS	12	22,15	100	3,8	21,40	23,50	22,26	2,9

N : nombre de valeurs traitées

Med : médiane

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

CVnp : coefficient de variation non paramétrique

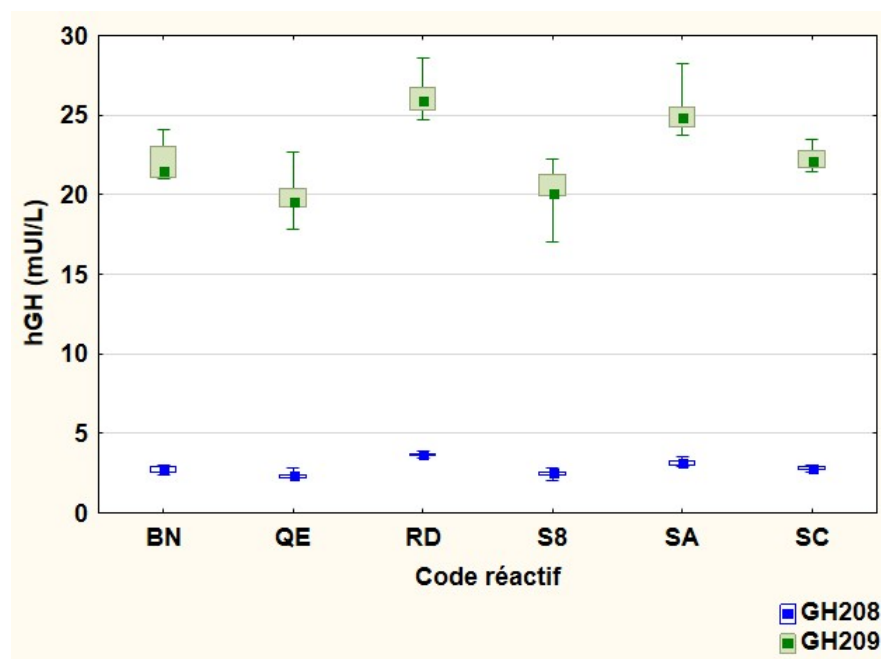
Min : minimum

Max : maximum

Mtr : moyenne arithmétique calculée à partir de Ntr

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

**figure 2 :** diagramme « boîte et moustaches » des résultats obtenus lors de l'opération 15GPV1 pour l'hGH. Les boîtes représentent l'espace inter-quartile (percentile 75 – percentile 25) ainsi que la position de la médiane (point), les « moustaches » positionnent les percentiles 5 et 95.



	Trousses, distributeurs
BN	hGH-RIACT, Cisbio Bioassays
QE	Access hGH, BECKMAN COULTER
RD	hGH Cobas, ROCHE
S8	Liaison hGH, DIASORIN
SA	Immulite, SIEMENS
SC	Isys hGH, IDS

## Commentaire

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

L'analyse des réponses montre que tous les résultats sont exprimés par rapport au standard international SI 98/574. De plus, les laboratoires suivent majoritairement les recommandations SFBC (1) avec 50 laboratoires soit 67,6% exprimant strictement leurs résultats en mUI/L du SI 98/574. Pour 8 laboratoires soit 10,8%, le rendu des résultats se fait en mUI/L et en ng/mL du SI 98/574. Enfin, les laboratoires rendant uniquement leurs résultats en ng/mL utilisent tous un facteur de conversion correct. Ces résultats sont donc satisfaisants.

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

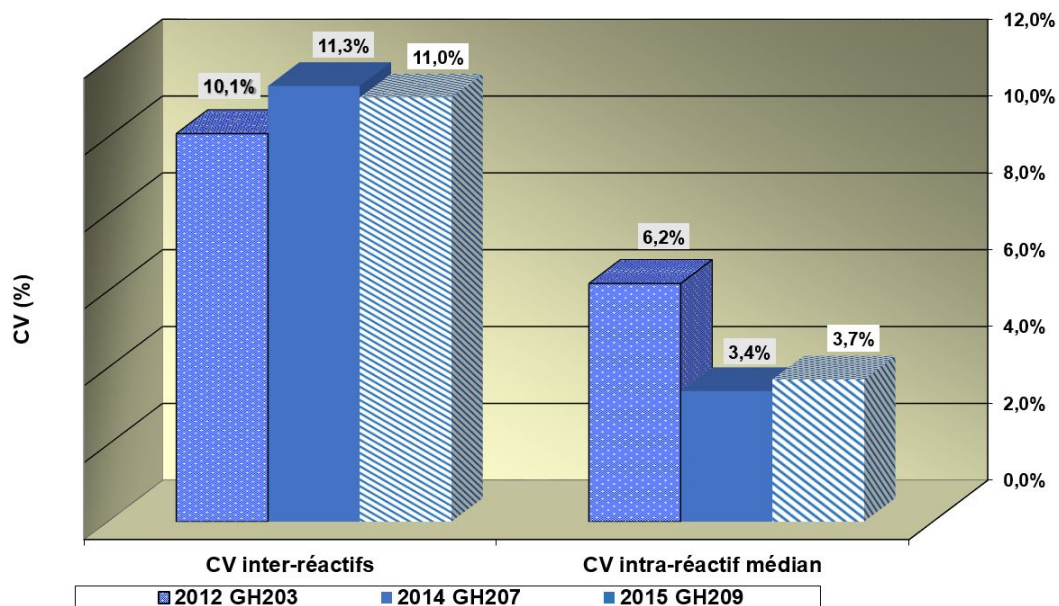
Le seuil définissant le déficit en GH de l'enfant est toujours de 20 mUI/L (arrêté du 24 janvier 1997). De même, la recommandation émise par la SFBC de rendre les résultats en « mUI/L » est toujours d'actualité (1). Il faut toutefois noter que le consensus international sur le dosage d'hGH et d'IGF-I recommande un rendu des valeurs d'hGH en ng/mL à condition que les trousse soient toutes calibrées contre le standard SI 98/574 (3). Dans le cadre du déficit en hormone de croissance chez l'enfant, un rendu des résultats en



ng/mL nécessiterait donc de redéfinir les seuils diagnostiques et thérapeutiques, le seuil « historique » de « 10 ng/mL » n'étant plus adapté.

Lors de l'opération 2015, un échantillon de concentration voisine de 20 mUI/L était contrôlé. La comparaison des résultats avec ceux obtenus en 2012 et 2014 avec un échantillon de concentration comparable suggère une relative stabilité de la dispersion des résultats inter-réactifs et une amélioration de la précision des trousse (figure 3). Ainsi, le CV intra-réactif médian qui était de 6,2 % en 2012 est de 3,7% en 2015.

**figure 3 :** évolution de la dispersion des résultats inter et intra-réactifs entre 2012 et 2015 pour des échantillons de concentration voisine de 20 mUI/L d'hGH.



## Bibliographie

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

# PTH

## Echantillons PTH151 et PTH152

### Méthode statistique et expression des résultats

L'analyse statistique comporte les étapes suivantes :

- Exclusion des valeurs aberrantes très éloignées des autres résultats correspondant à des erreurs grossières par la méthode de Tukey.
- Calcul de la valeur cible (moyenne tronquée, Mtr) sur l'ensemble des résultats et pour chaque réactif : la moyenne est obtenue après une double troncature à 2 écarts-types, c'est à dire après deux éliminations successives des valeurs en dehors de la moyenne  $\pm 2$  écarts-types. Cette double troncature a pour but de stabiliser la valeur cible en éliminant les valeurs extrêmes. Lorsqu'un même réactif peut être utilisé sur plusieurs automates, une comparaison statistique des résultats des couples « réactif/automate » est effectuée. Les résultats sont regroupés si aucune différence n'est notée.
- Calcul du coefficient de variation inter-laboratoires obtenu après cette double troncature (CVtr) sur l'ensemble des résultats et pour chaque réactif : il est exprimé en % et calculé en divisant l'écart-type par la moyenne. Il estime la dispersion des résultats.
  - Ces calculs sont réalisés lorsque l'effectif avant troncature est suffisant ( $n \geq 4$ ).
  - Calcul du CV intra-réactif médian : il correspond à la valeur médiane des CVtr inter-laboratoires intra-réactif, cette valeur sépare les réactifs en 2 groupes d'effectifs égaux. La moitié des réactifs présente un CVtr intra-réactif inférieur ou égal au CV médian.
  - Des limites acceptables (LA) sont utilisées pour apprécier les résultats obtenus par chaque laboratoire. Ces limites tiennent compte des performances analytiques des systèmes de dosage présents sur le marché mais également des exigences cliniques. Les LA sont exprimées en % et permettent de délimiter de part et d'autre de la cible (moyenne tronquée obtenue avec la même trousse) un intervalle à l'intérieur duquel un résultat est considéré comme « acceptable ». Lors de l'opération 15GPV1, une LA de 15% a été appliquée.

### Définition des échantillons

Deux échantillons lyophilisés ont été envoyés lors de l'opération 15GPV1. Ils ont été fabriqués à partir d'un pool de sérums natifs surchargé avec le standard international SI 95/646.

Avant l'envoi, l'expert a vérifié la concentration en PTH, ainsi que la stabilité à 4°C après reconstitution (tableau IV). Il était recommandé de doser l'échantillon dans les 4 heures suivant la reconstitution.

La concentration de l'échantillon PTH151 se situait légèrement au-dessus des valeurs usuelles et celle de l'échantillon PTH152 se caractérisait par une valeur élevée largement supérieure à celles-ci.

tableau IV : résultats de l'étude de stabilité.

	PTH151		PTH152	
	résultat à T0	résultat à T4 heures	résultat à T0	résultat à T4 heures
Moyenne (ng/L)	145	140	505	488

### Réactifs utilisés

Au total 12 trousse sont utilisées, ce sont des immuno-dosages de type « sandwich » automatisés pour la plupart. Trois trousse sont très peu utilisées : la trousse Elsa PTH Irma Cisbio Bioassays [BN], 1 utilisateur ; la trousse Vitros PTH ORTHO [P5], 5 utilisateurs et la trousse Liaison N-Tact DIASORIN [S8], 4 utilisateurs.

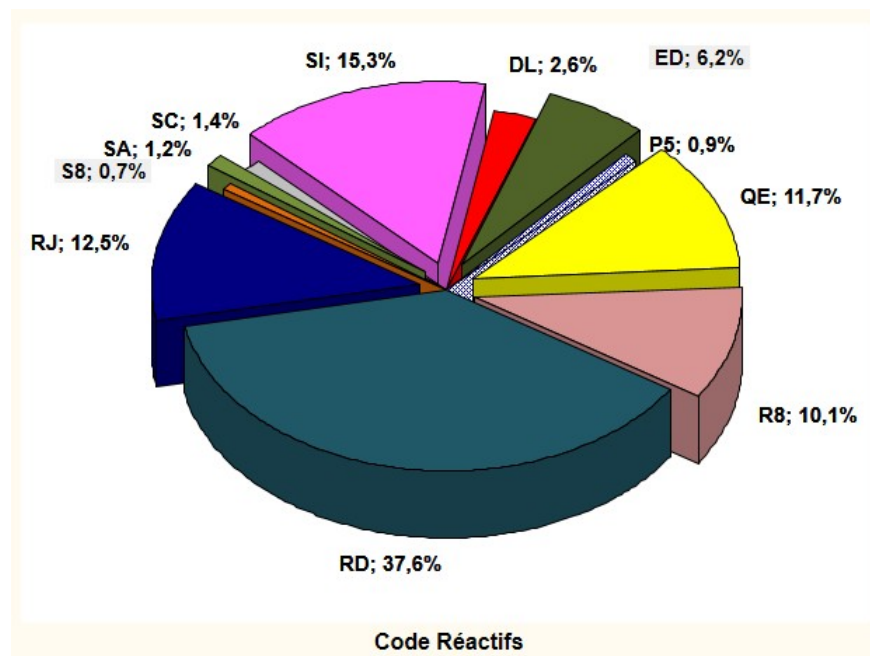
La répartition des trousse de réactif les plus utilisées ( $n \geq 4$ ) lors de l'opération 15GPV1 est donnée dans le tableau V et sur la figure 4.

Les 11 trousse les plus utilisées sont toutes, sauf deux, ([R8] LIAISON 1-84 PTH, DIASORIN et [ED] Cobas PTH bio-intacte ROCHE), des dosages dits de deuxième génération. Ces dosages de seconde



génération sont configurés pour reconnaître la PTH intacte (PTH1-84) mais reconnaissent également d'autres fragments circulants dont beaucoup sont inactifs. Plus récemment des dosages dits de troisième génération ont été mis au point. Ils sont d'un point de vue analytique spécifiques de la PTH1-84.

**figure 4** : répartition des trousse de dosage les plus utilisées (n≥4) pour doser la PTH lors de l'opération 15GPV1.



**tableau V** : réactifs les plus utilisés (n≥4) pour doser la PTH lors de l'opération 15GPV1.

Code	trousse, distributeurs	Nombre d'utilisateurs
		15GPV1
DL	STAT-AIA PACK intact PTH, TOSOH	15
ED	Cobas PTH bio-intacte, ROCHE	37
P5	VITROS PTH intacte, ORTHO	5
QE	Access Intact PTH, BECKMAN	76
R8	LIAISON 1-84 PTH, DIASORIN	56
RD	Cobas PTH, ROCHE	218
RJ	ARCHITECT Intact PTH, ABBOTT	76
S8	LIAISON N-Tact PTH, DIASORIN	4
SA	IMMULITE PTH intacte, SIEMENS	7
SC	PTH Intacte ISYS, IDS	8
SI	ADVIA Centaur PTH intacte, SIEMENS	89

## Résultats des participants

Le dosage de la PTH a été réalisé par 81,7% des participants. Les principaux résultats statistiques concernant l'opération 15GPV1 sont donnés dans le tableau VI et sur les figures 5, 6, 7 et 8.

La distribution des résultats est d'allure plurimodale pour les deux échantillons. La dispersion inter-laboratoires globale est importante : PTH151, CVTr = 16,3% ; PTH152, CVTr = 22,1%.

Concernant l'échantillon PTH151, l'écart entre la moyenne de la trousse donnant les résultats les plus élevés ([SA], Immulite SIEMENS) et celle donnant les résultats les plus bas ([R8] Liaison 1-84 PTH DIASORIN) est important (111%, expression en % par rapport à la moyenne toutes techniques) sans modification en regard des résultats obtenus en 2011 pour l'échantillon PTH111. De plus, les résultats diffèrent significativement selon la trousse utilisée (test de Kruskal Wallis,  $p < 0,0001$ ). La trousse [SA] Immulite SIEMENS donne des résultats statistiquement plus élevés que ceux obtenus par les autres trouses.

L'une des deux trouses dites de troisième génération [R8] Liaison 1-84 PTH DIASORIN donne des résultats statistiquement plus bas que ceux obtenus par les autres trouses.

De même l'échantillon pour PTH152, l'écart entre la moyenne de la trousse donnant les résultats les plus élevés ([SA], Immulite SIEMENS) et celle donnant les résultats les plus bas ([R8] Liaison 1-84 PTH DIASORIN) est important (106%) en légère augmentation en regard des résultats obtenus en 2012 pour l'échantillon PTH121 (88,6%). De plus, les résultats diffèrent significativement selon la trousse utilisée (test de Kruskal Wallis,  $p < 0,0001$ ). Pour les trouses avec plus de 5 utilisateurs, la trousse [SA] Immulite SIEMENS donne des résultats statistiquement plus élevés que ceux obtenus par les autres trouses.

Les deux trouses dites de troisième génération [R8] Liaison 1-84 PTH DIASORIN et [ED] Cobas PTH1-84 ROCHE donnent des résultats statistiquement plus bas que ceux obtenus par les autres trouses.

Même après exclusion des résultats obtenus par les deux trouses de 3<sup>e</sup> génération, l'écart inter-techniques des trouses de seconde génération demeure important (84 %).

Pour les échantillons PTH151 et PTH152, toutes les trouses présentent une précision correcte avec des CV inter-laboratoires intra-réactif généralement inférieurs à 10%. La valeur médiane des CV inter-laboratoires intra-réactif est de 5,3 % (PTH151) et 5,5 % (PTH152), en amélioration en regard du résultat obtenu en 2011 et en 2012 pour l'échantillon PTH111 (7,3%) et PTH121 (6,8%).

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

Le tableau VII propose pour les trouses les plus utilisées la LS des valeurs usuelles fournies dans les notices des fabricants et la valeur moyenne obtenue pour chaque trousse exprimée en multiple de la LS.

Lors de l'opération 15GPV1, l'expression en multiple de la LS améliore légèrement l'écart inter-trouses mais ne résout pas complètement la dispersion des résultats posant le problème de l'hétérogénéité des populations utilisées pour déterminer ces valeurs usuelles.

**tableau VI** : résultats de la PTH lors de l'opération 15GPV1 (résultats exprimés en ng/L). En raison de la dispersion des résultats, la moyenne toutes techniques est donnée à titre indicatif.

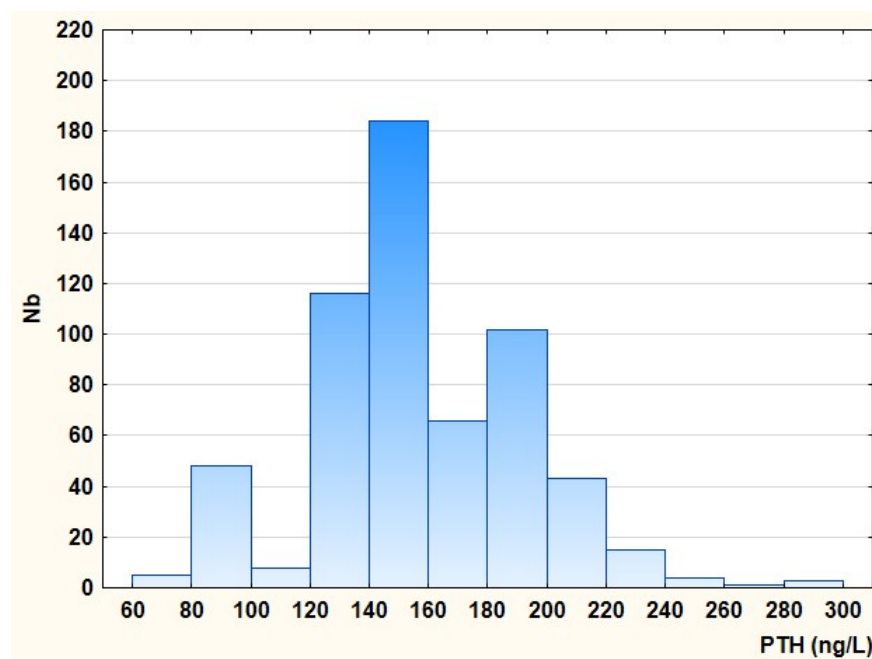
code	distributeur	Réactif	Nbnt	Moytr	CVtr
<b>PTH151</b>					
		Toutes techniques	592	158,46	16,3
DL	TO SOH Biosciences	ST AIA-PACK intact PTH	15	160,23	6,5
ED	ROCHE Diag.	Cobas PTH bio-intact	37	130,88	3,4
P5	ORTHO Clin Diag.	VTRO S PTH intacte	5	186,52	4,3
QE	BECKMAN COULTER	Access Intact PTH	76	160,70	5,1
R8	DIASORIN S.A.	Liaison 1-84 PTH	56	89,80	6,6
RD	ROCHE Diag.	Cobas PTH intact	218	142,13	3,7
RJ	ABBOTT Diag.	Architect Intact PTH	76	193,28	5,5
S8	DIASORIN S.A.	Liaison N-Tact Gen II PTH	4	201,75	16,0
SA	SIEMENS MED.SOL. DIAGN.	Intact PTH Immulite/Im. 2000/2000Xpi	7	265,71	8,0
SI	SIEMENS MED. SOL. DIAGN.	Intact PTH ADVIA Centaur	89	193,45	5,6
SC	IDS	PTH intacte iSYS	8	134,38	5,2
<b>PTH152</b>					
		Toutes techniques	592	538,87	22,1
DL	TO SOH Biosciences	ST AIA-PACK intact PTH	15	542,75	5,5
ED	ROCHE Diag.	Cobas PTH bio-intact	37	376,08	3,9
P5	ORTHO Clin Diag.	VTRO S PTH intacte	5	659,86	3,1
QE	BECKMAN COULTER	Access Intact PTH	75	577,36	5,4
R8	DIASORIN S.A.	Liaison 1-84 PTH	55	351,53	6,6
RD	ROCHE Diag.	Cobas PTH intact	219	490,21	3,2
RJ	ABBOTT Diag.	Architect Intact PTH	76	688,81	5,9
S8	DIASORIN S.A.	Liaison N-Tact Gen II PTH	4	878,75	9,9
SA	SIEMENS MED.SOL. DIAGN.	Intact PTH Immulite/Im. 2000/2000Xpi	7	925,14	8,2
SI	SIEMENS MED. SOL. DIAGN.	Intact PTH ADVIA Centaur	90	697,49	5,1
SC	IDS	PTH intacte iSYS	8	473,01	6,2

Pour 1 laboratoire dosage effectué avec Elsa PTH Cisbio [BN], résultat PTH151 : 143,1 ng/L ; PTH152 : 445,8 ng/L

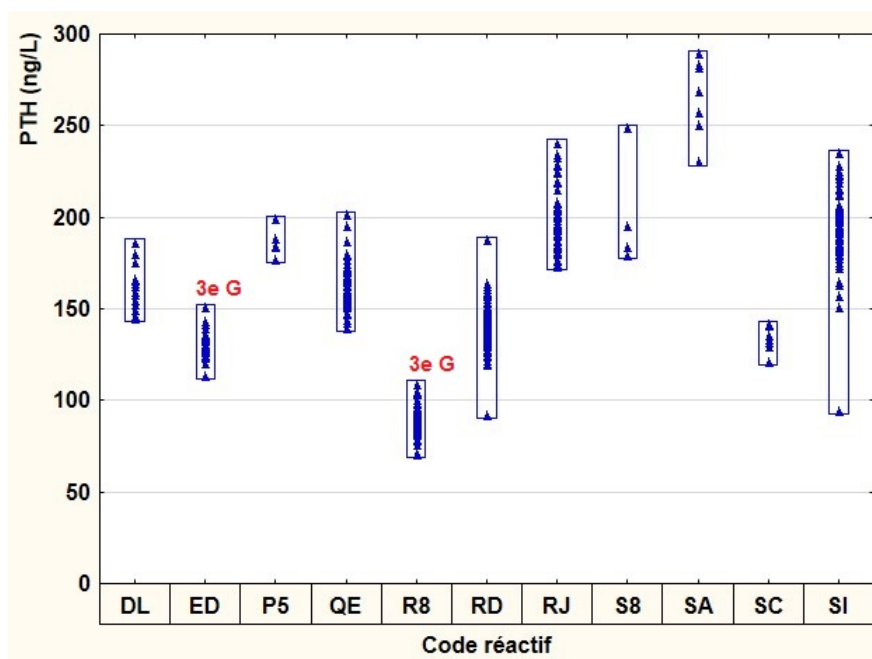
**tableau VII** : résultats de la PTH lors de l'opération 15GPV1 : résultats exprimés en multiple de la limite supérieure des valeurs usuelles (sérum) indiquées dans les notices.

code	distributeur	réactif	Limite Supérieure (LS) des Valeurs Usuelles (ng/L)	Moyenne en multiple de LS - PTH151	Moyenne en multiple de LS - PTH152
DL	TOSOH Biosciences	ST AIA-PACK intact PTH	64,0	2,5	8,5
ED	ROCHE Diag.	Cobas PTH bio-intacte	56,9	2,3	6,6
P5	ORTHO Clin Diag	VITROS PTH intacte	53,5	3,5	12,3
QE	BECKMAN COULTER	Access Intact PTH	88,0	1,8	6,6
R8	DIASORIN S.A.	Liaison 1-84 PTH	36,8	2,4	9,6
RD	ROCHE Diag.	Cobas PTH	65,0	2,2	7,5
RJ	ABBOTT Diag.	Architect Intact PTH	68,3	2,8	10,1
S8	DIASORIN S.A.	Liaison N-Tact PTH	87,1	2,3	10,1
SA	SIEMENS M.S. D.	PTH intacte Immulite	67,0	3,9	13,8
SI	SIEMENS M.S. D.	Intact PTH ADVIA Centaur	72,0	2,7	9,7
SC	IDS	PTH intacte Isys	78,4	1,7	6,0

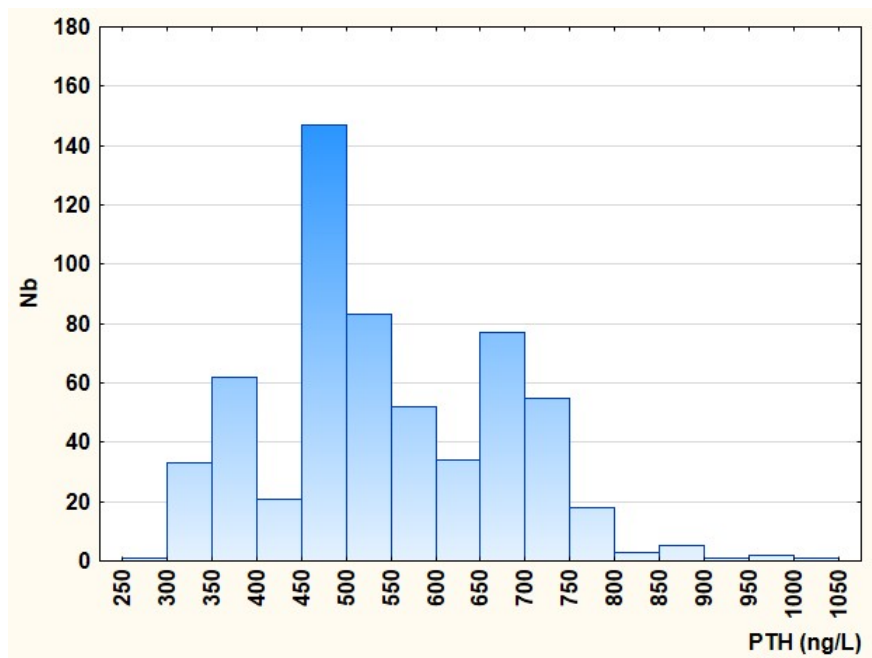
**figure 5** : échantillon PTH151, histogramme de distribution des résultats de la PTH « toutes techniques ».



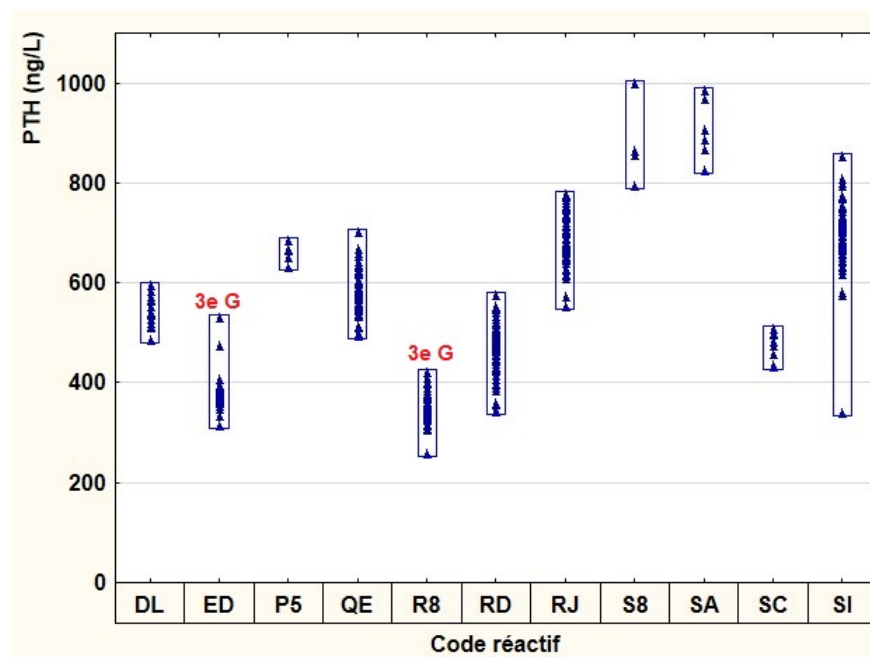
**figure 6 :** échantillon PTH151, résultats individuels obtenus lors de l'opération 15GPV1 avec les réactifs les plus utilisés (n ≥ 4). Les rectangles représentent la dispersion intra-réactif, les triangles représentent les résultats individuels. Les 2 trousse de dosages dites de 3<sup>e</sup> génération sont notées 3<sup>e</sup> G.



**figure 7 :** échantillon PTH152, histogramme de distribution des résultats de la PTH « toutes techniques ».



**figure 8 :** échantillon PTH152, résultats individuels obtenus lors de l'opération 15GPV1 avec les réactifs les plus utilisés (n ≥ 4). Les rectangles représentent la dispersion intra-réactif, les triangles représentent les résultats individuels. Les 2 trousse de dosages dites de 3<sup>e</sup> génération sont notées 3<sup>e</sup> G.



## Commentaire

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

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

Ces divers fragments circulants sont plus ou moins reconnus par les trousse de dosage, ce qui entraîne une variabilité inter-techniques importante. La connaissance des caractéristiques de la trousse utilisée et notamment, le pourcentage de croisement avec le fragment 7-84 est donc nécessaire. La réaction croisée des trousse avec le fragment 7-84, lorsqu'elle est indiquée, est comprise entre 48,3 et 107,4% pour les dosages dits de seconde génération. Les trousse dites de troisième génération ne reconnaissent pas le fragment 7-84, et les résultats obtenus sont minorés. Ainsi les trousse [R8] Liaison 1-84 PTH DIASORIN et [ED] Cobas PTH bio-intact ROCHE, seuls dosages dits de 3<sup>e</sup> génération utilisés lors de l'opération 2015, donnent les résultats les plus bas pour les échantillons PTH151 et PTH152.

La variabilité inter-techniques très importante notée lors de l'opération est également liée au manque d'homogénéité de la standardisation (raccordement métrologique) des trousse. Il existe actuellement un standard international officiellement reconnu par l'OMS, l'IS 95/646, une préparation de PTH (1-84) recombinante humaine du NIBSC. A ce jour, tous les dispositifs ne sont pas encore raccordés métrologiquement. De plus, les données de raccordement métrologique des trousse ne sont pas toujours indiquées dans les notices des trousse.

Rappelons pourtant qu'un contrôle du marché ANSM des dispositifs de dosage de PTH a été réalisé en 2009 (5). Il recommandait d'afficher le raccordement au standard 95/646. Depuis 2009, un suivi des notices est réalisé régulièrement par l'ANSM. Certaines mises à jour des notices pourraient ne pas être réalisées dans l'attente des conclusions qu'un groupe de travail de l'IFCC doit donner.



En effet, l'IFCC a mis en place, depuis septembre 2011 un groupe de travail ayant pour objet la standardisation de la PTH. La commutabilité du SI 95/646 est en cours d'étude.

Une publication récente (6) a montré l'intérêt d'un raccordement métrologique correct pour les trousse de 3<sup>e</sup> génération. Ainsi, une nette diminution de la variabilité inter-techniques a été objectivée après avoir réalisé la standardisation des deux trousse de 3<sup>e</sup> génération (Roche [RD] et Diasorin [R8]) sur le SI 95/646.

La mesure de la parathormone (PTH) demeure donc complexe. Les problèmes analytiques liés à la spécificité des dosages et à la standardisation ne sont pas résolus.

Les résultats de ce contrôle montrent qu'en l'état du marché, les concentrations en PTH déterminées à l'aide des différentes trousse de dosage ne sont pas interchangeable même après avoir exprimé les résultats en multiple de la LS des valeurs usuelles. Une publication (7) préconise d'utiliser une même population de référence sans déficit en vitamine D et avec une fonction rénale normale pour établir les valeurs usuelles de PTH. La constitution d'un panel de sérums qui pourrait être utilisé par les fabricants afin d'établir des valeurs de référence plus homogènes est actuellement en cours (groupe de travail de l'IFCC sur la PTH).

Toutefois, à l'heure actuelle, la surveillance du taux de PTH surtout chez les IRC doit être réalisée par une même trousse. La bonne précision intra-essai des trousse permet de penser que le suivi au long terme d'un patient, s'il est réalisé avec une même trousse, est tout à fait correct.

## Bibliographie

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

5. Rapport du contrôle de marché des dispositifs médicaux de diagnostic in vitro de dosage de la parathormone, Mars 2009.

6. Standardization of Diasorin and Roche automated third generation PTH assays with an international Standard : impact on clinical populations. E. Cavalier et al, Clin Chem Lab Med, 2014, 52, 1-5.

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

## 25 OH Vitamine D Echantillons VITD151 – VITD152

### Méthode statistique et expression des résultats

L'analyse statistique comporte les étapes suivantes :

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

duquel un résultat est considéré comme « acceptable ». Lors de cette opération, une LA de 25% a été utilisée.

## Définition de l'échantillon

Deux échantillons lyophilisés ont été envoyés lors de l'opération 15GPV1. L'échantillon VITD151 est constitué d'un pool sérique non surchargé et l'échantillon VITD152 a été fabriqué à partir du pool sérique utilisé précédemment surchargé avec 100 nmol/L de 25OH vitamine D2 (25OH ergocalciférol).

Les résultats obtenus après dosage par LC-MS/MS sont les suivants :

VITD151 : 25OH vitamine D3 49,4 nmol/L et 25OH vitamine D2 3,4 nmol/L

VITD152 : 25OH vitamine D3 49,7 nmol/L et 25OH vitamine D2 97,5 nmol/L

Ces résultats correspondent à la moyenne de deux dosages effectués dans deux laboratoires différents.

Avant l'envoi, l'expert a vérifié la concentration en 25 OH vitamine D, ainsi que la stabilité à 4°C après reconstitution (tableau VIII).

En 2015, la concentration de l'échantillon VITD151 se situait en dessous des valeurs souhaitables (le statut vitaminique souhaitable est compris entre 75 et 150 nmol/L) et l'échantillon VITD152 permettait de vérifier l'influence d'une charge en 25OH vitamine D2 sur les résultats obtenus avec les différentes trousses.

**Tableau VIII** : résultats de l'étude de stabilité.

	VITD151		VITD152	
	résultat à T0	résultat à T72 heures	résultat à T0	résultat à T72 heures
Médiane (nmol/l)	35,5	42,5	67,9	74,3

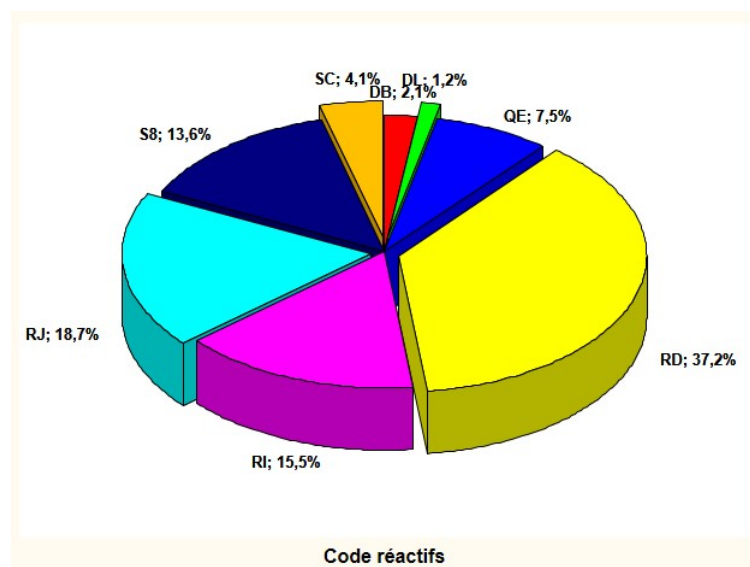
## Réactifs utilisés

Lors de cette opération, deux types de techniques de dosage ont été utilisés, les immuno-dosages (réalisés ici par 99,1% des laboratoires) et les techniques séparatives (HPLC ou spectrométrie de masse, par 0,9% des laboratoires).

Au total 13 trousses ou techniques sont présentes. Les techniques sont très largement automatisées, seuls quelques laboratoires utilisent des techniques radio-immunologiques (RIA DIASORIN [B9] : n=2 et RIA IDS [AG] : n=1) ou des techniques séparatives LC-MS/MS (n=5) et HPLC (n=1). De plus, deux laboratoires utilisent la trousse EIA commercialisée par ISYS et INGEN [NG], un laboratoire utilise la trousse ORTHO VITROS [P5].

La répartition des trousses de réactifs les plus fréquentes (n≥6) est donnée dans le tableau IX et sur la figure 9. Elle reste stable en regard de celle observée en 2014.

**figure 9** : répartition des trousse de dosage les plus utilisées (n≥6) pour doser la 25 OH-Vitamine D lors de l'opération 15GPV1.



**tableau IX** : réactifs les plus utilisés (n ≥ 6) pour doser la 25OH-Vitamine D lors de l'opération 15GPV1.

Code	trousse, distributeurs	Nombre d'utilisateurs
DB	VIDAS 25 OHVitamine D2+ D3 BIOMERIEUX	15
DL	STAT AIA-PACK 25OH vitamin D TOSOH	8
QE	Access 25(OH) Vitamine D total BECKMAN	58
RD	Cobas vitamine D total, ROCHE	245
RI	ADVIA Centaur vitamine D total (stand meth Ref), SIEMENS	101
RJ	ARCHITECT 25 OH vitamine D, ABBOTT	224
S8	LIAISON 25 OH vitamine D, DIASORIN	89
SC	25 OH ISYS, IDS	27

## Résultats des participants

Le dosage de la 25 OH vitamine D a été réalisé par 92,4% des participants. Les principaux résultats statistiques concernant l'opération 15GPV1 sont donnés dans le tableau X et sur les figures 10, 11, 12 et 13.

La distribution des résultats montre un étalement des résultats sur la droite. La dispersion inter-laboratoires globale est importante (VITD151 : CVTr = 24,1% - VITD152 : CVTr = 33,1%).

L'écart entre la moyenne de la technique donnant les résultats les plus élevés et celle donnant les résultats les plus bas est de 136% pour l'échantillon VITD151 ([RI] ADVIA Centaur SIEMENS - [RD] Cobas ROCHE). Les résultats diffèrent significativement selon la trousse utilisée (test de Kruskal Wallis,  $p < 0,0001$ ).

Le dosage de l'échantillon par LC-MS/MS a été réalisé. L'échantillon VITD151 contient majoritairement de la 25OH vitamine D3 ainsi qu'une très faible dose de 25OH vitamine D2 (3,4 nmol/L). Pour la 25OH vitamine D3 la valeur de référence assignée à l'échantillon VITD151 est de 49,4 nmol/L. Pour cet échantillon de contrôle, la concordance entre les résultats obtenus par les différents immuno-dosages contrôlés et la valeur de référence de la 25OH vitamine D3 est variable (figure 14). Les moyennes des différentes trousse sont comprises entre 59,6 et 161,9% de cette valeur. On peut noter toutefois que 4 trousse donnent des résultats très proches de la valeur de référence (87,0 à 101,6%).

Pour l'échantillon VITD152, la surcharge en 25OH vitamine D2 (100 nmol/L) impacte fortement les résultats. Les valeurs de référence assignées par LC-MS/MS sont : 49,7 nmol/L pour la 25OH vitamine D3 et

97,5 nmol/L pour la 25OH vitamine D2. La concordance entre la valeur de 25OH vitamine D2 mesurée par les immuno-dosages et la valeur de référence LC-MS/MS a été calculée comme suit :

$$(\text{valeur 25OHD immuno-dosage} - \text{valeur 25OHD3 LC-MS/MS}) * 100 / \text{valeur 25OHD2 LC-MS/MS}$$

On peut noter que pour cet échantillon, les résultats de 5 trousse sous-estiment largement les résultats donnés par LC-MS/MS. Ces résultats diffèrent des pourcentages de croisement indiqués dans les notices (tableau XI). Toutefois, la 25 OH vitamine D, molécule hautement hydrophobe, est susceptible d'induire un effet « matrice » lorsque les échantillons proposés par les évaluations externes de qualité ne sont pas des échantillons sériques natifs ce qui était le cas pour l'échantillon VITD152.

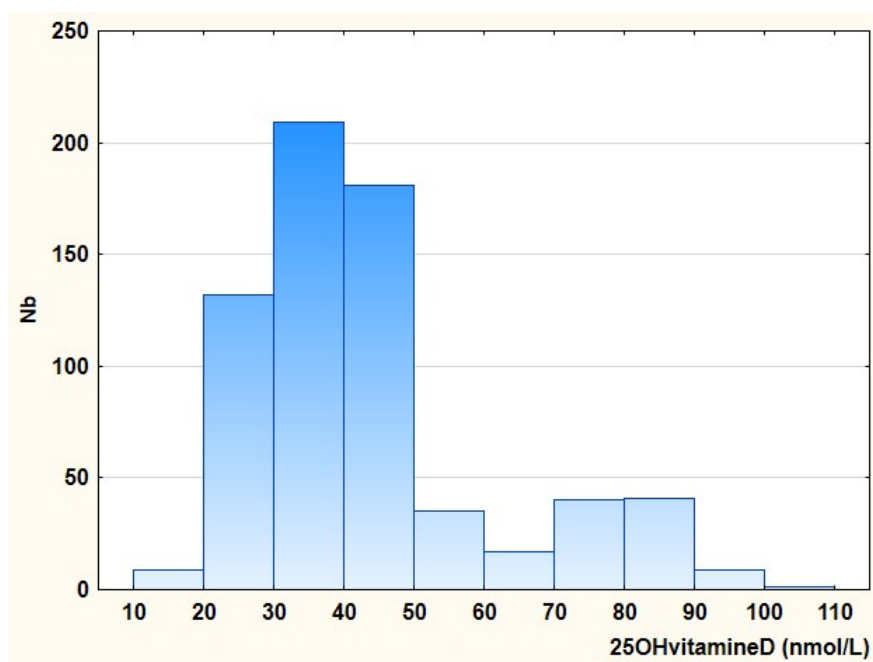
La précision des trousse est peu satisfaisante pour le niveau bas (échantillon VITD151) avec 3 trousse sur 8 pour lesquelles le CV inter-laboratoires intra-réactif est supérieur à 10% et la valeur médiane des CV inter-laboratoires intra-réactif est de 8% en légère amélioration en regard des résultats obtenus en 2013 avec un échantillon de concentration équivalente (VITD131 – CV médian = 10,6%) .

Pour l'échantillon VITD152, les 8 trousse présentent une précision (CV inter-laboratoires intra-réactif) inférieure à 10%. La valeur médiane des CV inter-laboratoires intra-réactif est de 7,2%.

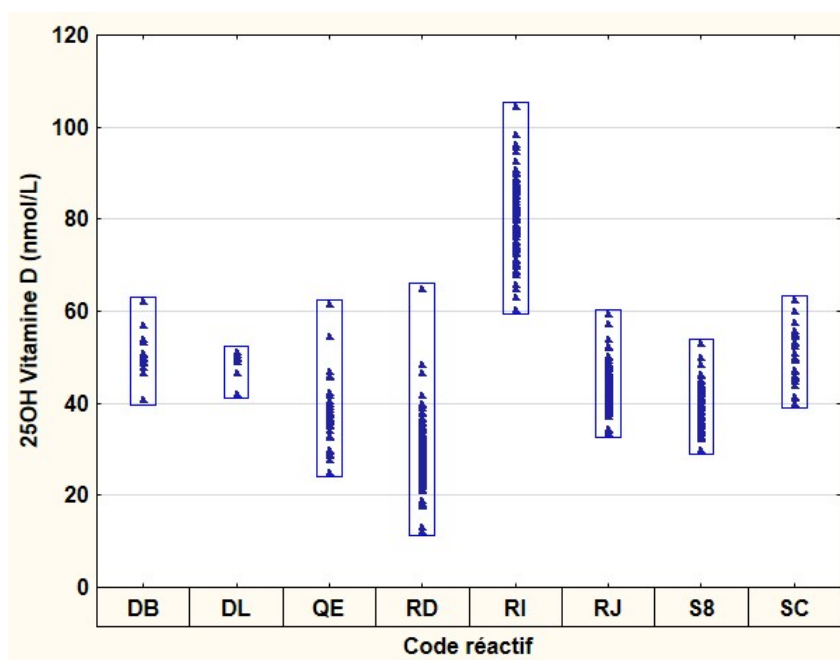
**tableau X** : résultats de la 25 OH vitamine D obtenus lors de l'opération 15GPV1 (résultats exprimés en nmol/L).

code	distributeur	Réactif	Nbnt	Moytr	CVtr
<b>VITD151</b>					
		Toutes techniques	674	37,19	24,13
DB	BIOMERIEUX	VIDAS 25 OH VITAMINE D2 + D3	15	50,18	4,94
DL	TO SOH BIOSCIENCE S	ST AIA-PACK 25 OH VITAMINE D	8	47,64	7,88
QE	BECKMAN COULTER	25(OH) VITAMIN D TOTAL	54	36,82	13,69
RD	ROCHE Diag.	Cobas Vitamin D total	243	29,45	13,88
RI	SIEMENS MED.SOL. DIAGN.	AD VIA Centaur Vitamine D total	101	80,00	7,57
RJ	ABBOTT Diag.	Architect 25 OH Vitamin D	123	42,96	6,76
S8	DIASORIN S.A.	Liaison 25-OH vitamin D Total	89	38,59	8,12
SC	IDS	25 OH Isys	27	49,71	11,33
<b>VITD152</b>					
		Toutes techniques	670	73,77	33,11
DB	BIOMERIEUX	VIDAS 25 OH VITAMINE D2 + D3	14	74,25	3,78
DL	TO SOH BIOSCIENCE S	ST AIA-PACK 25 OH VITAMINE D	8	156,69	7,13
QE	BECKMAN COULTER	25(OH) VITAMIN D TOTAL	51	201,81	7,66
RD	ROCHE Diag.	Cobas Vitamin D total	243	63,71	8,14
RI	SIEMENS MED.SOL. DIAGN.	AD VIA Centaur Vitamine D total	101	143,00	7,40
RJ	ABBOTT Diag.	Architect 25 OH Vitamin D	123	61,37	5,42
S8	DIASORIN S.A.	Liaison 25-OH vitamin D Total	89	67,53	6,52
SC	IDS	25 OH Isys	27	76,01	7,25

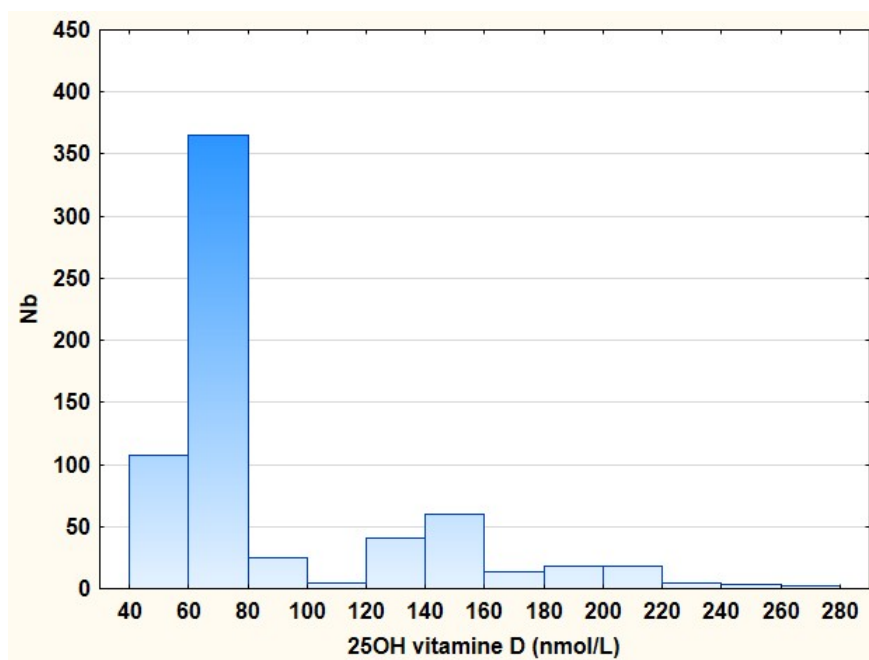
**figure 10** : échantillon VITD151, histogramme de distribution des résultats de la 25 OH vitamine D « toutes techniques ».



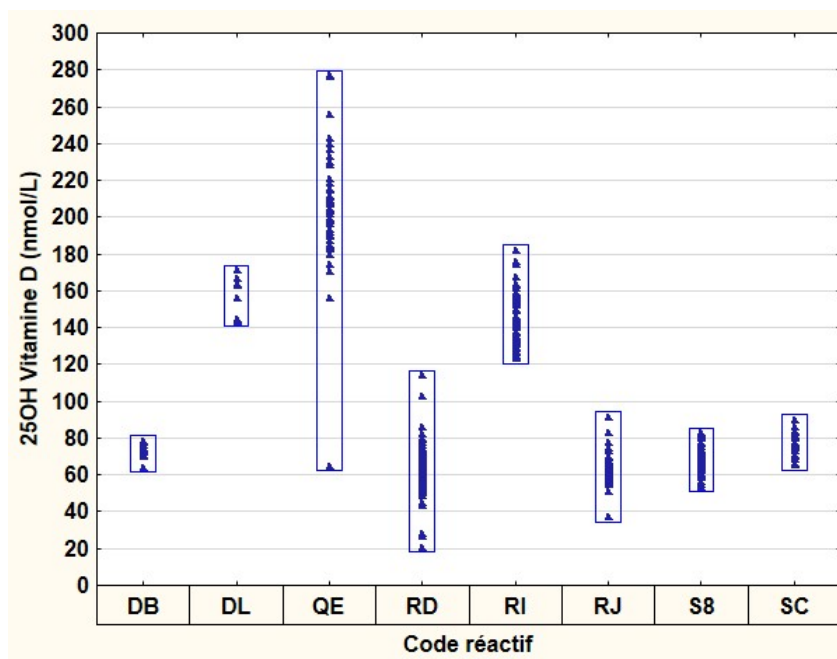
**figure 11** : échantillon VITD151 résultats individuels obtenus lors de l'opération 15GPV1 avec les réactifs les plus utilisés ( $n \geq 6$ ). Les rectangles représentent la dispersion intra-réactif, les triangles représentent les résultats individuels.



**figure 12** : échantillon VITD152, histogramme de distribution des résultats de la 25 OH vitamine D « toutes techniques ».

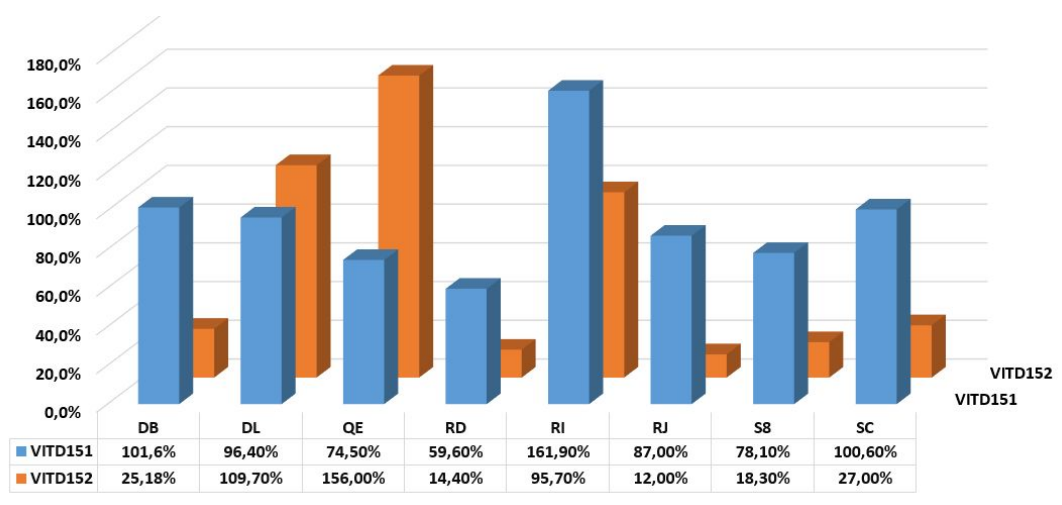


**figure 13** : échantillon VITD152 résultats individuels obtenus lors de l'opération 15GPV1 avec les réactifs les plus utilisés (n ≥ 6). Les rectangles représentent la dispersion intra-réactif, les triangles représentent les résultats individuels.





**figure 14** : concordance entre les résultats moyens obtenus lors de l'opération 15GPV1 avec les réactifs les plus utilisés (n ≥ 6) et les résultats obtenus par LC-MS/MS.



**tableau XI** : % de réaction croisée avec la 25OH vitamine D2 pour les réactifs les plus utilisés (n ≥ 5) lors de l'opération 15GPV1 (données des notices).

Code	trousses, distributeurs	% réaction croisée 25 OH vitamine D2
DB	VIDAS 25 OH Vitamine D2+ D3 BIOMERIEUX	91
DL	STAT AIA-PACK 25OH vitamin D TOSOH	101,1
QE	Access 25(OH) Vitamine D total BECKMAN	100
RD	Cobas vitamine D total, ROCHE	92
RI	ADVIA Centaur vitamine D total (stand meth Ref), SIEMENS	104,5
RJ	ARCHITECT 25 OH vitamine D, ABBOTT	82
S8	LIAISON 25 OH vitamine D, DIASORIN	100
SC	25 OH ISYS, IDS	75

## Commentaire

La vitamine D est une pro-hormone produite par la peau à partir du 7-déhydrocholestérol, sous l'influence des rayons UVB, et apportée en faible quantité par les aliments (vitamine D3 d'origine animale et vitamine D2 d'origine végétale). Pour être efficace, elle doit d'abord être transformée dans le foie en 25 OH vitamine D (forme de stockage) puis dans les reins en 1-25 diOH-vitamine D (forme active). Seul le dosage de la 25 OH vitamine D permet de déterminer le statut global de la vitamine D.

A côté des effets connus sur le métabolisme phospho-calcique et osseux, les effets de la vitamine D sur de nombreux autres tissus ou fonctions de l'organisme (neuromusculaire, système immunitaire, cardiovasculaire, angiogenèse...) sont de mieux en mieux documentés. En parallèle, un grand nombre de fabricants ont proposé ce dosage sur leurs automates. Afin de freiner l'explosion du nombre de dosages de 25 OH vitamine D, la HAS a émis des recommandations en novembre 2013: le dosage de 25 OH vitamine D doit être réservé au diagnostic de rachitisme et d'ostéomalacie, aux mentions des AMM des médicaments de l'ostéoporose et à certaines situations particulières : personnes âgées faisant des chutes répétées, suivi ambulatoire de l'adulte transplanté rénal au-delà de 3 mois après transplantation, traitement chirurgical de l'obésité chez l'adulte. Depuis 2013, en dehors des indications préconisées par la HAS, le dosage de 25 OH

vitamine D n'est plus remboursé. En 2015, une nette diminution du nombre de dosages a été observée (données Ameli : diminution de 48%).

D'un point de vue analytique, le dosage de 25 OH vitamine D demeure « difficile » compte tenu de la nature hautement hydrophobe de sa molécule et de sa liaison étroite avec sa protéine porteuse (VDBP). De plus, la 25 OH vitamine D existe sous deux formes principales, la 25 OH vitamine D2 (ou ergocalciférol) et la 25 OH vitamine D3 (ou cholécalciférol) ce qui pose problème puisqu'en France la supplémentation des patients peut se faire sous les 2 formes (spécialités contenant de la vitamine D2 ou de la vitamine D3). Il est donc primordial que les trousse de dosage puissent reconnaître de la même manière les deux formes de 25 OH vitamine D.

Récemment, deux procédures de mesure en LC-MS/MS ont été reconnues comme référence par le JCTLM (Joint Commity for Tracability in Laboratory Medicine) et leur utilisation devrait permettre une meilleure traçabilité des dosages. De plus, un matériau de référence (SMR972) présentant des valeurs certifiées de 25 OH vitamine D2, 25 OH vitamine D3 et de 3-épi 25 OH vitamine D est disponible. Enfin, un programme de standardisation a été mis en place depuis novembre 2010. L'harmonisation des dosages devrait être réalisable dans les années à venir. Ce programme comporte deux étapes. La première consiste en la calibration des concentrations en 25OH vitamine D3 et en 25OH vitamine D2 à partir de 40 sérums dont la valeur a été déterminée par la technique de référence développée par le NISCT et l'université de Gand. La seconde phase consiste à vérifier la calibration via le dosage en aveugle de 10 échantillons de sérum envoyés tous les 3 mois.

Lors de l'opération 2015, le pourcentage de concordance des résultats moyens obtenus avec les trousse les plus utilisées et les résultats obtenus en LC-MS/MS montre pour l'évaluation de la 25OH vitamine D2 une nette tendance à la sous-estimation des résultats (VITD152). Toutefois, un effet « matrice » ne peut être exclu lorsque les échantillons proposés ne sont pas des échantillons sériques natifs ce qui était le cas pour l'échantillon VITD152. Au regard de ces résultats, l'ANSM prévoit d'interroger les fabricants.

Le pourcentage de concordance des résultats moyens obtenus avec les trousse les plus utilisées et les résultats obtenus en LC-MS/MS montre pour l'évaluation de la 25OH vitamine D3 (échantillon VITD151) des résultats plus satisfaisants avec des résultats très proches de la valeur de référence pour 4 trousse sur 8.

## Conclusion

Concernant l'hGH, les résultats obtenus en 2015 confirment une relative stabilisation de l'écart inter-techniques. La standardisation n'a pas permis de régler complètement le problème.

Concernant la PTH, la dispersion des résultats obtenus avec les trousse actuellement disponibles est importante. Cette dispersion s'explique d'une part, par l'hétérogénéité moléculaire de la PTH et la spécificité du couple d'anticorps utilisé, et d'autre part, par le manque d'homogénéité de la standardisation (raccordement métrologique) des trousse. Toutefois, la précision des techniques (CV inter-laboratoires intra-technique) est globalement satisfaisante. L'expression des résultats en multiple de la LS des valeurs usuelles préconisée pour les patients dialysés atténuée mais ne résout pas la dispersion inter-laboratoires inter-techniques. Ceci est probablement en partie dû à la disparité des populations de référence utilisées pour établir les valeurs usuelles proposées dans les différentes notices. Malgré des interventions de l'ANSM, les notices des trousse demeurent parfois imprécises, des renseignements manquent, en particulier le pourcentage de croisement pour le fragment 7-84 et le raccordement métrologique.

Concernant la 25 OH vitamine D, la dispersion inter-techniques des résultats est importante pour les deux échantillons étudiés en 2015. De plus, quelques trousse ou techniques utilisées présentent une précision intra-réactif améliorable avec des CV inter-laboratoires intra-réactif supérieurs à 10%.