

VALIDATION D'UNE METHODE QUANTITATIVE DE PORTEE A

APPLICATION AU DOSAGE DE LA VITAMINE D
PAR LA TROUSSE ELECSYS VITAMINE D TOTALE DE ROCHE
SUR MODULAR

BELLEST Laurent

DU « Assurance qualité au laboratoire de biologie médicale »

10-2011

Introduction

- Biologiste au sein d'un LBM
- Contexte
 - Bioqualification obtenue pour 36 mois
 - Objectif → Accréditation totale pour 2018
- Validation du dosage vitamine D totale par la trousse Elecsys de Roche® sur Modular
 - Optimisation du travail
 - Analyse très prescrite
 - Grande disparité des trousse de dosage

Descriptif de la méthode

Mesurande	Vitamine D
Principe et méthode de mesure	Electrochimiluminescence - Compétition
Analyseur	Modular Roche
Milieu biologique	Sérum
Type de récipient	Tube sec
Prétraitement	15' à 2500 g
Matériau de référence	Etalon international IFCC
Référence réactif du fournisseur	Vitamine D total (REF 05894913)
Unité	ng/ml
Type d'étalonnage	2 points de calibration en duplicate
Marquage CE	Oui

Évaluation des performances

Données bibliographiques

- Etendue de mesure
- Limite de détection
- Limite de quantification
- Valeurs de références
- Interférences

Vérifications sur site

- Fidélité
 - Répétabilité
 - Reproductibilité
- Justesse
- Corrélation
- Calcul incertitude de mesure

Données bibliographiques

Étendue de mesure	3 – 70 ng/ml
Limite de détection	3 ng/ml
Limite de quantification	9 ng/ml

Données fournisseur (recommandations du protocole EP17-A du CLSI)

Valeurs de références	30 à 100 ng/ml
-----------------------	----------------

D'après Souberbielle et al, *Autoimmun Rev.* 2010

→ Taux souhaitable pour la santé et non pas obtenu à partir de la population générale (80% de la population française carencée)

Interférences :	
Hémoglobine	> 2g/l
bilirubine	∅
lipémie	
biotine	

Données fournisseur

Répétabilité

- Matériel et méthode

- CQ Roche (Précicontrol Varia)
- 20 CQ niveau bas, 20 CQ niveau haut
- Temps du test : < 3h

- Résultats

Nombre de répétition
Moyenne (ng/ml)
Ecart type
CV
CV fournisseur réajusté

Niveau bas	Niveau haut
20	20
20.47	42.88
1.08	1.34
5.28%	3.12%
6.61%	4.27%

= conforme

- Discussion

- Absence de valeur de référence donnée par les sociétés savantes

Reproductibilité

- Matériel et méthode

- CQ Roche (Précicontrol Varia)
- Passage hebdomadaire : 30 CQ niveau bas, 30 CQ niveau haut
- Etude rétrospective

- Résultats

Nombre de répétition
Moyenne (ng/ml)
Ecart type
CV
CV fournisseur réajusté

Niveau bas	Niveau haut
30	30
19.92	39.89
1.30	1.73
6.52 %	4.34 %
7.00 %	4.78 %

= conforme

- Discussion

- Absence de valeur de référence donnée par les sociétés savantes

Justesse

- Matériel et méthode

- 2 patients représentatifs (carencé et non carencé)
- Sérums aliquotés en 2 fractions chacun.
 - 1^{er} aliquot : réfrigéré, dosé tous les jours pendant 10 jours sur Modular
 - 2^{ème} aliquot : congelé, transporté et dosé en LC-MS/MS

- Résultats

	Niveau bas	Niveau haut
Nombre de répétitions	10	10
Moyenne (ng/ml)	16.45	44.77
Valeur vraie (LC-MS/MS)	18.10	49.24
Biais	9.10 %	9.09 %

- Discussion

- Absence de méthode de référence
- Absence d'abonnement à un EEQ (en cours)
- Absence de biais de référence donné par les sociétés savantes et le fournisseur
- Biais < Biais (immunologie SFBC)

= conforme

Corrélation

- Matériel et méthode

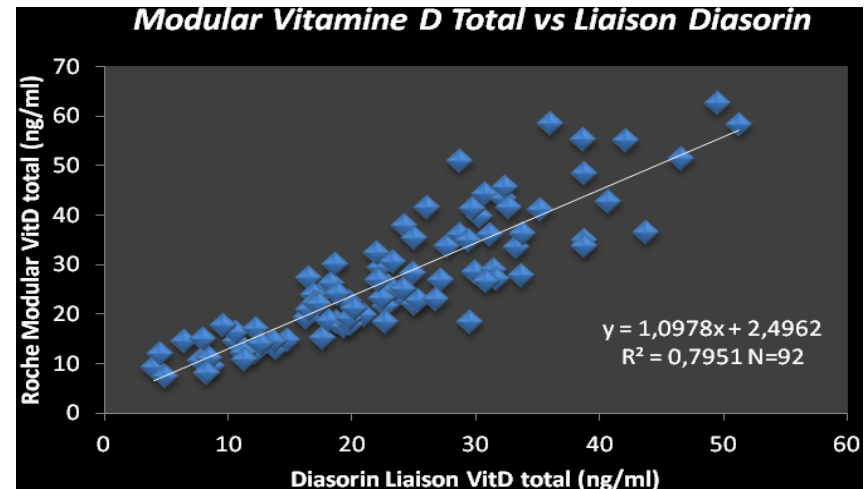
- 2 automates (Liaison de Diasorin vs Modular de Roche)
- 2 troussees différentes
- 92 patients

- Résultats (droite de Passing Bablock)

Nombre d'échantillons	92
Pente de la droite de régression	1.09
Ordonné à l'origine	2.49
R de la droite de régression	0.88

- Discussion

- Résultats plus élevés avec la trousse Roche
- CLIA (Diasorin) versus ECLIA (Roche)
- Différences cliniquement négligeables



= conforme

Incertitude de mesure

	Niveau bas		Niveau haut	
	moyenne (ng/ml)	ET (ng/ml)	moyenne (ng/ml)	ET (ng/ml)
Étalon (données fournisseur)	1.99	$U_{eb} = 0.63$	45.9	$U_{eh} = 3.09$
Fidélité intermédiaire	19.92	$U_{fb} = 1.30$	39.89	$U_{fh} = 1.73$
Incertitude (ng/ml)	$U_{rb}^2 = U_{eb}^2 + U_{fb}^2$ $U_{rb} = 1.44$		$U_{rh}^2 = U_{eh}^2 + U_{fh}^2$ $U_{rh} = 3.54$	
Incertitude de mesure élargie (ng/ml)	$U_b = 2 \times 1.44 = 2.88$		$U_h = 2 \times 3.54 = 7.08$	

Conclusion

- Dosage de la vitamine D totale par la trousse Elecsys Vitamine D totale de Roche sur Modular
- Évaluation de la fidélité intermédiaire, justesse, corrélation et incertitude de mesure pour le dosage de la vitamine D
- Difficultés :
 - Pas de technique de référence
 - Pas de valeurs de référence provenant des sociétés savantes
- Intérêt : Proposer un avis biologique au dossier médical au plus près des techniques utilisées
- Perspectives : Accréditation de la paillasse Modular