

Stabilité préanalytique des marqueurs sériques maternels hCG et PAPP-A du dépistage de la trisomie 21 au premier trimestre de la grossesse

Preanalytical stability of maternal serum markers hCG β and PAPP-A

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 Service de biochimie et pharmacologie toxicologie, CHRU, Hôpital de la Cavale Blanche, Brest, France

⁵ Laboratoire Clément, Le Blanc-Mesnil, France

⁶ Service de biochimie-hormonologie, Hôpital Robert Debré, AP-HP, Paris, France

⁷ Laboratoire de biochimie, Université Versailles Saint-Quentin, France
<francoise.muller@rdb.aphp.fr>

Résumé. Le dépistage de la trisomie 21 par les marqueurs sériques maternels repose sur un calcul de risque incluant la chaîne libre de l'hormone chorionique gonadotrophique (hCG β) et la *pregnancy associated placenta protein* de type A (PAPP-A). Cette étude a pour objectif de préciser les conditions pré-analytiques de stabilité de ces marqueurs en sang total à 15-25 °C et dans le sérum conservé à 4-8 °C : 158 patientes ont été incluses dans l'étude. Deux techniques, Cobas 8000e602, Roche Diagnostics (58 patientes) et DelfiaXpress, PerkinElmer (100 patientes) ont été étudiées. La stabilité des marqueurs a été étudiée dans le sang total (15-25 °C) 2, 4, 6 et 8 heures après le prélèvement et dans le sérum conservé à 4-8 °C à 24, 72 et 120 heures. Les variations relatives ont été définies par le rapport $(C_T - C_2)/C_2$, C_2 étant la concentration du marqueur au temps 2 heures, et C_T la concentration aux temps étudiés. En sang total conservé 8 heures à 15-25 °C, on observe une augmentation moyenne de 2,4 % pour l'hCG β et inférieure à 1 % pour la PAPP-A. Dans le sérum conservé 5 jours à 4-8 °C, l'hCG β augmente en moyenne de 4,2 % et la PAPP-A reste stable. L'impact de ces augmentations sur le calcul de risque de trisomie 21 est faible. En conclusion, des délais de conservation de 8 heures du sang total à 15-25 °C et de 5 jours après centrifugation et séparation du sérum (gel séparateur ou décantation) et conservation à 4-8 °C peuvent être considérés comme acceptables.

Mots clés : *pré-analytique, marqueurs sériques, conservation, bêta hCG libre, accréditation*

Abstract. Down syndrome maternal serum marker screening is based on a risk calculation including the free β - human chorionic gonadotropin (hCG β) and pregnancy-associated placenta protein type A (PAPP-A). The aim of this study was to define the pre-analytical conditions of stability of these markers both in whole blood at 15-25 °C and, after centrifugation, in serum at 4-8 °C. 158 patients were included in the study. Two automated workstations were used for assays, Cobas 8000e602, Roche Diagnostics (58 patients tested) and DELFIA Xpress, PerkinElmer (100 patients tested). The stability of markers

objectif de l'étude

préciser les **conditions pré-analytiques** de stabilité des marqueurs sériques maternels du 1^{er} trimestre: **PAPP-A** et **βhCG libre**

- . en **sang total à 15-25°C**
- . dans le **sérum conservé à 4–8°C**

Deux techniques

. Roche Diagnostics® Cobas 8000 e602

. PerkinElmer® DelfiaXpress

tubes 5mL avec gel séparateur BD Vacutainer®

réalisation du prélèvement sanguin au sein d'un des deux laboratoires concernés par l'étude.

4 tubes par patiente lors de la même prise de sang

158 patientes incluses

- 58 patientes Roche Diagnostics® Cobas 8000 e602

- 100 patientes PerkinElmer® DelfiaXpress

Méthode

- . avant centrifugation: conservation des 4 tubes à **15-25 °C**
- . puis centrifugation chacun respectivement **2 H, 4 H, 6 H** et **8 H** après l'heure de prélèvement.
- . conservation des tubes centrifugés à 4-8°C (sans décantation – tubes gels)
- . réalisation des dosages sur chacun des quatre tubes dans la même série du lendemain.

Calcul des variations relatives

= rapport $(CT-C2)/C2$

CT :concentration du marqueur aux temps étudiés

C2: concentration du marqueur au temps 2 heures (référence)

Résultats

8H après le prélèvement, en sang total:

. l'augmentation de la **β hCG libre** est **< 3%** (moyenne 2,4% - maximum 2,9%)

↳ soit une augmentation de 0,3% par heure en moyenne

. l'augmentation de la **PAPP-A** est **< 1%**

↳ soit une augmentation de 0,06% par heure en moyenne

Stabilité de la β hCG libre et de la PAPP-A dans le sang total

Conclusion

un délai de conservation **de 8 h du sang total à 15-25 °C** peut être considéré comme acceptable.

Stabilité de la β hCG libre et de la PAPP-A dans le sérum conservé à 4-8°C

le tube centrifugé 4 heures après le prélèvement (séparation du sérum en tube gel)
conservé à 4–8°C
redosé à 24, 72 et 120 heures après le prélèvement
dans 30 cas (technique PerkinElmer uniquement)

. l'augmentation moyenne de la **β hCG libre** dans le sérum est respectivement

↳ de **3,36 %** (maximum 4,5%) au **4^{ème} jour**

↳ de **4,2 %** (maximum 5,6%) au **5^{ème} jour**

(la pente d'augmentation de la β hCG libre est nettement plus faible que pour la conservation en sang total).

. les valeurs de la **PAPP-A** restent **stables**.

Stabilité de la β hCG libre et de la PAPP-A **dans le sérum conservé à 4-8°C**

Conclusion

un délai de conservation **du sérum de 5 jours à 4-8°C** peut être considéré comme acceptable.

Impact faible

- ↳ augmentation moyenne de **2,4 %** (maximum 4 %) après une conservation de **8h du sang total à 15-25°C**
- ↳ augmentation moyenne de **3 %** (maximum 4,9%) après conservation du sérum **4 jours à 4-8°C**

Du fait de la forme exponentielle de la courbe du facteur de vraisemblance de la β hCG libre, l'augmentation de la β hCG libre conduit à une augmentation du risque calculé de T21 dont l'amplitude dépend de la valeur initiale du marqueur et de la valeur des autres facteurs intervenant dans le calcul de risque.

- . l'augmentation du risque de T21 peut atteindre 15 %.
- . possible impact clinique pour les risques proches de la valeur seuil de 1/250.

- . un délai de conservation de **8 h du sang total à 15-25 °C** peut être considéré comme acceptable.
- . un délai de conservation du **sérum de 5 jours à 4-8 °C** peut être considéré comme acceptable.

		Durée de conservation avant centrifugation		Durée de conservation du sérum à 2-8°C après centrifugation	
		fabricant	étude	fabricant	étude
Roche	β hcg libre	8 heures	8 heures	7 jours	5 jours
	PAPP-A	8 heures	8 heures	3 jours	5 jours
PerkinElmer	β hcg libre	NP	8 heures	15 jours	5 jours
	PAPP-A	NP	8 heures	6 jours	5 jours