

REEVALUATION DES REACTIFS DE DOSAGE DE LA SOUS-UNITE β LIBRE DE L'HCG

(Rapport court)

Décembre 2002

**GROUPE DE TRAVAIL POUR LA REEVALUATION ANALYTIQUE DES REACTIFS
DE DOSAGE DE LA SOUS-UNITE β LIBRE DE L'HCG**

Experts :

Professeur Marcel ASSICOT

Institut Gustave Roussy
Laboratoire de Biochimie des tumeurs neuro-endocrines
34, rue Camille Desmoulins
94 805 VILLEJUIF CEDEX
Tél : 01 42 11 40 34
Fax : 01 42 11 52 67
Email : assicot@igr.fr

Professeur Jean Pierre YVERT

Direction service de santé en région
Terre Ile de France
Quartier Général loges - BP 220
00492 ARMEES
Tél : 01 39 21 24 21
Fax: 01 39 21 31 20

Agence de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé :

Docteur Pascale MAISONNEUVE

Chef du Département Diagnostic in Vitro de la Direction de l'Evaluation des Dispositifs Médicaux (DEDIM)

Docteur Marianne DESCHENES

Chef de l'Unité Evaluation des Dispositifs Médicaux de Diagnostic in Vitro

Docteur Hélène DELATTRE

Evaluateur à l'unité Evaluation des Dispositifs Médicaux de Diagnostic in Vitro

Béatrice BOUCHER

Technicienne de laboratoire à l'unité Evaluation des Dispositifs Médicaux de Diagnostic in Vitro

I. OBJECTIF DE LA REEVALUATION

L'Afssaps a organisé une réévaluation de la sensibilité analytique des réactifs de dosage de la sous-unité bêta-libre de l'hormone gonadotrope chorionique (hCG) en raison de l'intérêt majeur de ce dosage dans la détection de la reprise évolutive de certaines tumeurs trophoblastiques et testiculaires.

II. LISTE DES EXPERTS ET DES SITES EVALUATEURS

Experts : JP Yvert ■, M Assicot ■, Afssaps ■

Sites : Institut G Roussy (M Assicot), Industriels (JP Yvert), Afssaps

Fabricants	1 ^{er} site	2 ^{ème} site
CIS BIO	G. Roussy	Gif sur Yvette
DPC	G. Roussy	La Garenne Colombes
BRAHMS	G. Roussy	St-Ouen
ORTHO	Les Ulis	Afssaps

III. LISTE DES REACTIFS CONCERNES

Lors de l'initiation de la réévaluation neuf réactifs étaient enregistrés à l'Afssaps :

N° AFSSAPS	NOM DU PRODUIT	REFERENCES COMMERCIALES	DISTRIBUTEUR	DATE ATTESTATION
K 83611	KIT EIA BETA HCG SOUS UNITE		BIOMEDEX Int.	25/08/92
R 50662	IMMULITE BHCG LIBRE	LKFB1/LKFB5	DPC	21/07/97
M 22242	FBHCG EIACT	FBHCG EIACT	CISBIO	24/01/95
H 53630*	ELSA F BHCG	ELSA F BHCG	CISBIO	12/06/96
R 49702	KRYPTOR FREE B HCG	FBHCG 100	CISBIO	30/05/97
		FBHCG AUTO CT Version adaptée sur l'automate Cispack 4200	CISBIO	31/05/97
P 39312*	ELSA FB150	ELSA FB150	CISBIO	12/06/96
N 35322	B HCG LIBRE	114569	MERCK	12/04/96
R 55492	VITROS B-HCH LIBRE	GEM 1450/ Cat n° 813 6384	ORTHO	11/12/97
P 38492*	AMERLEX M RIA B HCG LIBRE IRMA	IMB. 6091/4	ORTHO	22/07/96

Un des réactifs a été radié des fichiers de l'Afssaps en raison de sa non présentation à la réévaluation :

N° AFSSAPS	NOM DU PRODUIT	REFERENCES COMMERCIALES	DISTRIBUTEUR	DATE ATTESTATION
K 83611	KIT EIA BETA HCG SOUS UNITE	CL 7030 00	BIOMEDEX Int.	25/08/92

Sur les huit réactifs restant, quatre ont été radiés des fichiers de l' Afssaps à la demande de l'industriel :

N° AFSSAPS	NOM DU PRODUIT	REFERENCES COMMERCIALES	DISTRIBUTEUR	DATE ATTESTATION
M 22242	FBHCG EIACT	FBHCG EIACT	CISBIO	24 01 95
P 39312*	ELSA FB150	ELSA FB150	CISBIO	12 06 96
N 35322	B HCG LIBRE	114569	MERCK	12 04 96
P 38492*	AMERLEX M RIA B HCG LIBRE IRMA	IMB. 6091/4	ORTHO	22 07 96

Finalement, quatre réactifs ont été soumis à la réévaluation :

N° AFSSAPS	NOM DU PRODUIT	REFERENCES COMMERCIALES	DISTRIBUTEUR	DATE ATTESTATION	Limite de Détection annoncée dans la notice
R 50662	IMMULITE BHCG LIBRE	LKFB1/LKFB5	DPC France	21 07 97	0,002 ng/ml
H 53630*	ELSA F BHCG	ELSA F BHCG	CISBIO International	12 06 96	0,04 ng/ml
R 49702	KRYPTOR FREE B HCG	K-FBHCG 100/400	BRAHMS France	30 05 97	0,1 ng/ml
R 55492	VITROS Cartouche de réactifs BHCG libre	GEM 1450/ Cat n° 813 6384	Ortho Clinical Diagnostics France	11 12 97	0,2 mUI/ml

NB : les réactifs dont les numéros d'enregistrement à l'Afssaps sont suivis d'une (*) contiennent des radioéléments artificiels.

IV. PROTOCOLE DE REEVALUATION ANALYTIQUE DES REACTIFS DE DOSAGE DE LA SOUS-UNITE \$ LIBRE DE L'hCG

OBJECTIFS : Evaluer les performances analytiques des réactifs de dosage de la sous-unité β libre de l'hCG aux basses concentrations et en particulier la limite de détection. Il est rappelé que l'une des indications majeures de ces réactifs est d'éviter le non-dépistage de la reprise évolutive d'un cancer.

1 -DONNEES A COMMUNIQUER PAR LES INDUSTRIELS :

1.1-L'origine du calibrateur β hCG libre

- préciser l'étalon international utilisé pour standardiser le calibrateur de la trousse
- donner la correspondance masse-unité.

1.2- Donner la composition du calibrateur zéro et préciser si elle est différente de celle des autres calibrateurs.

1.3- Si le milieu utilisé pour diluer les échantillons est différent du calibrateur zéro, en donner la composition.

1.4- Le clone des anticorps monoclonaux utilisés dans la technique sandwich (pour la capture et la révélation) et les épitopes reconnus (si possible indiquer la localisation de ces épitopes sur un schéma). Le numéro de clone interne à la société est acceptable. La référence bibliographique des publications décrivant ces épitopes est souhaitée.

1.5- Donner la liste exhaustive des réactions croisées (R.C.) du système analytique vis à vis de l'hCG dimérique **obligatoirement** et si possible des différents composés susceptibles d'interférer, comme :

- le fragment β core
- la forme clivée de β hCG libre
- la sous-unité β libre de la LH.

On indiquera ou bien le taux de R.C. ou bien les effets d'un ajout des substances susceptibles d'interférer sur la concentration mesurée de β hCG libre. Décrire les conditions expérimentales (concentration, volume final de la réaction, etc.).

A titre d'exemple, l'étude des réactions croisées avec l'hCG dimérique pourrait être réalisée comme suit :

*Niveau de concentration initiale en sous unité β libre de l'hCG :

- aux environs de 0.5 ng/ml
- aux environs de 2 ng/ml

Préciser l'origine de ce milieu de départ.

*Ajout d'un volume identique d'une solution d'hCG dimérique (préciser l'origine du milieu ajouté). S'il n'est pas certain que la solution soit totalement dépourvue de \$ hCG libre, utiliser une préparation comportant une concentration en β hCG libre la plus faible possible, en préciser et en justifier la teneur. Quantité de hCG dimérique ajoutée :

- aux environs de 5 ng/ml
- aux environs de 20 ng/ml

Les essais devront être réalisés en triple.

2 -Etude des performances analytiques

Les experts testeront les réactifs enregistrés, chaque réactif étant évalué sur 2 sites.
Ils auront à apprécier :

2.1- La limite de détection

Deux protocoles seront suivis :

-celui préconisé par la SFBC-ACORATA (I.B.S., 1989, n°14, p17-28)

-la méthode simplifiée : concentration correspondant à 2 fois l'écart type par rapport à la moyenne obtenue lors du dosage en 30 exemplaires du calibrateur zéro.

2.2- Le coefficient de variation inter série (destiné à apprécier la reproductibilité inter-série).

Cette étude sera effectuée sur trois échantillons de sérum humain à des niveaux de concentration faibles, proches de 0,1-0,3 et 0,5 ng/ml dosés en double et dans dix séries différentes.

NB : Pour les réactifs associés à un automate, les essais pourront être réalisés chez l'industriel ou dans un laboratoire d'accueil sous le contrôle de l'expert.

L'objectif visé est la vérification de la limite de détection annoncée, et la détermination de la reproductibilité inter-série aux trois concentrations considérées. Les résultats seront soumis à un traitement statistique.

3- LISTE DES EXPERTS

Monsieur le Professeur Marcel ASSICOT
Monsieur le Professeur Jean-Pierre YVERT
Afssaps

V. RESULTATS GLOBAUX

1.REPRODUCTIBILITE INTER SERIES (ng/ml)

	ELSA RIA		IMMULITE		KRYPTOR		VITROS ECI	
	Moy	CV%	Moy	CV%	Moy	CV%	Moy	CV%
S1 (0,11)	0,16	11,9	0,10	28,2	0,20	20,1	0,048	19,3
	0,17	18,3	0,18	12,7	0,30	15,1	0,050	22,6
S2 (0,30)	0,40	7,6	0,37	12,7	0,43	13,6	0,190	8,1
	0,43	13,1	0,45	12,3	0,51	8,63	0,210	6,8
S3 (0,53)	0,71	12,5	0,66	6,7	0,67	10,3	0,400	6,2
	0,69	10,5	0,80	12,5	0,78	7,55	0,418	5,5

2.LIMITE DE DETECTION ANALYTIQUE (ng/ml)

Fabricants	Annoncé	1 ^{er} site	2 ^{ème} site	Moyenne
ELSA	0,04	0,028	0,054	0,041
IMMULITE	0,002*	0,036	0,048	0,042
KRYPTOR	0,10	X	0,094*** 0,139***	0,094*** 0,139***
VITROS ECI	0,20	0,029**	0,026	0,028****

* 0.02 après contrôle sur une notice corrigée

** calcul établi à partir du diluant

*** calcul établi à partir des valeurs des concentrations et non pas du signal

**** calcul établi à partir des valeurs des signaux exprimés en ULA

3.LIMITE DE DETECTION FONCTIONNELLE (ng/ml)

Fabricants	(un) site	Moyenne
ELSA	0,054	
IMMULITE	0,056	
KRYPTOR	0,132* 0,132**	0,132
VITROS ECI	0,018(S1)*** 0,013(dil)***	0,016***

*

- * calcul à partir des RFU
- ** calcul à partir des concentrations
- *** calcul à partir des valeurs de mesure des signaux

VI. CONCLUSIONS DE LA REEVALUATION SUITE AUX AVIS DE LA CCER ET MESURES PRISES PAR LES INDUSTRIELS A LA DEMANDE DE L'AFSSAPS

A l'issue de cette réévaluation, 2 réactifs peuvent être utilisés pour détecter la reprise évolutive d'une tumeur, ainsi que dans les autres indications du dosage revendiquées par l'industriel :

-le réactif Immulite β hCG libre commercialisé par la société DPC France
(n° Afssaps : R 5066 2)

-le réactif ELSA Free β hCG commercialisé par la société CIS BIO International
(n° Afssaps : H 5363 0)

Les 2 autres réactifs restant sur le marché ne peuvent plus être utilisés dans l'indication de détection de la reprise évolutive d'une tumeur, mais restent utilisables dans les autres indications :

-le réactif Kryptor Free β hCG commercialisé par la société BRAHMS France
(n° Afssaps : R 4970 2)

-le réactif Vitros β hCG libre commercialisé par la société Ortho Clinical Diagnostics France
(n° Afssaps : R 5549 2)