

Revue générale et analyse prospective

## Calcul de risque de trisomie 21 fœtale : suivi statistique des multiples de la médiane

## Calculation of foetal Down's syndrome risk: monitoring the evaluation of multiple of median

J.F. Morin <sup>a,b,\*</sup>, M.P. Moineau <sup>a</sup>, V. Morin <sup>b</sup>, J.P. Codet <sup>a</sup>, D. Guenet <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Service de médecine nucléaire et de biophysique, centre hospitalier universitaire A. Morvan, 5, avenue Foch, 29285 Brest cedex, France

<sup>b</sup> Biostatistiques et informatique médicale, faculté de médecine, 22, rue Camille-Desmoulins, 29200 Brest, France

Reçu le 9 septembre 2002 ; accepté le 18 novembre 2002

### Résumé

Cet article propose une méthode de suivi et de contrôle de la conformité des multiples de la médiane (MOM), observés par un laboratoire, à la distribution utilisée par le moteur de calcul de risque de trisomie 21 fœtale par les marqueurs sériques maternels. Les propriétés statistiques des indicateurs utilisés sont rappelées ainsi que la démarche du calcul de risque ; puis la méthode de suivi est présentée, illustrée de quelques exemples.

© 2003 Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS. Tous droits réservés.

### Abstract

This article presents a method to monitor and control the laboratory multiple of median (MOM) conformance with the used statistical distribution for the foetal Down's syndrome risk calculation kernel via maternal serum markers. Statistical properties of indicators that were used are described as well as how the risk calculation was performed; the monitoring method is then presented using some illustrating examples.

© 2003 Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS. All rights reserved.

*Mots clés* : Trisomie 21 ; Marqueurs sériques maternels ; Médianes ; Contrôle de qualité

*Keywords*: Down's syndrome; Maternal serum markers; Median; Quality control

### 1. Introduction

La notion de médiane joue un rôle important dans le calcul de risque de trisomie 21 fœtale par les marqueurs sériques maternels. Les concentrations mesurées pour ces marqueurs sont transformées en multiples de la médiane (MOM) afin de se libérer de l'âge de la grossesse. Cette transformation fait appel à un « générateur de médianes », fonction déduite par analyse statistique de concentrations sériques obtenues sur

une population de femmes ne portant pas d'enfant atteint de T21 (population « normale »).

Afin d'améliorer la qualité du calcul de risque il est souhaitable que le biologiste s'assure que le recrutement de son laboratoire est bien en accord avec le générateur de médianes fourni dans son logiciel de calcul. C'est pourquoi nous décrivons ici une méthode de suivi des MOM que nous avons proposée [5] lors d'une réunion de l'Association des biologistes agréés (ABA) ; cette description est précédée d'une analyse des propriétés statistiques des indicateurs utilisés, d'un bref rappel du principe du calcul du risque ainsi que des interactions de ce suivi avec les bases de données « norma-

\* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : [jean-francois.morin@chu-brest.fr](mailto:jean-francois.morin@chu-brest.fr) (J.F. Morin).

les » et « pathologiques » utilisées par le noyau de calcul du logiciel. Enfin, quelques exemples illustrent les notions dévoloppées.

## 2. Définition et propriétés statistiques de la médiane

### 2.1. Définitions

#### 2.1.1. Quantiles

Soit une suite de  $n$  observations  $x_i$  d'une variable quantitative  $X$ .

On définit, de façon simplifiée, le quantile d'ordre  $k$ , comme les  $k-1$  valeurs (observées ou non) de la variable qui divisent l'ensemble des observations ordonnées (par ordre croissant) en  $k$  groupes de mêmes effectifs.

Parmi les quantiles les plus usuels on peut citer :

- les quartiles (ou quantiles d'ordre 4) :  $Q_1$ ,  $Q_2$  et  $Q_3$  ;
- les déciles (ou quantiles d'ordre 10) :  $D_1$ ,  $D_2$ , ...,  $D_9$  ;
- les centiles (ou quantiles d'ordre 100) :  $C_1$ ,  $C_2$ , ...,  $C_{99}$ .

#### 2.1.2. Médiane

La médiane  $\bar{x}$  est un cas particulier de quantile ; c'est le quantile d'ordre 2. Elle peut être simplement définie comme le milieu de la série des observations ordonnées par ordre croissant (ou décroissant) : elle sépare l'ensemble des observations ordonnées en deux groupes de mêmes effectifs. Elle est numériquement égale au quartile  $Q_2$ , au décile  $D_5$  et au centile  $C_{50}$ .

La Fig. 1 représente la distribution en fréquences cumulées croissantes d'une série d'observations quantitatives (concentrations sériques en AFP observées chez  $n = 163$  femmes enceintes à 16 semaines d'aménorrhée). On remarquera que l'axe des abscisses est celui des quantiles et que

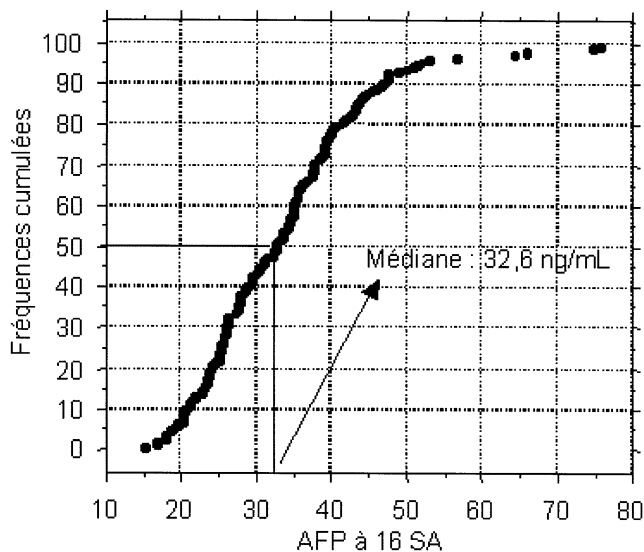


Fig. 1. Diagramme des fréquences cumulées par ordre croissant des concentrations en AFP de 163 femmes à 16 semaines d'aménorrhée. L'axe des abscisses est celui des quantiles. La valeur d'un quantile se déduit de la fréquence cumulée correspondante ; ainsi la médiane correspond à la fréquence 50 %.

l'axe des ordonnées correspond à la fréquence (exprimée en %) des observations de valeurs inférieures ou égales à ces quantiles.

### 2.2. Propriétés

#### 2.2.1. Utilisation et significations pratiques

Les quantiles sont utilisés en statistique descriptive comme indicateurs de position ou pour définir des indicateurs de dispersion d'un ensemble de mesures.

La médiane est, comme la moyenne arithmétique, un indice de position : elle indique l'ordre de grandeur des observations. Sa signification est évidente : 50 % des observations lui sont inférieures.

Les autres quantiles sont aussi des indicateurs de position : par exemple le quartile  $Q_1$  indique que 25 % des observations sont situées en dessous de sa valeur, le centile  $C_{95}$  est une limite en dessous de laquelle on observe 95 % des observations, etc.

L'intervalle interquartile  $Q_3-Q_1$  contient 50 % des observations ; il est tout particulièrement utilisé dans les représentations « boîte et moustaches » pour décrire synthétiquement la distribution des observations ; il constitue un indice de dispersion ; sa signification est évidemment plus immédiate que celle de l'écart-type qui, quant à lui, peut être interprété comme la racine carrée d'un moment d'inertie. L'intervalle intercentile  $C_{97,5}-C_{2,5}$  (qui est en fait l'intervalle intermillilaire  $M_{97,5}-M_{2,5}$  car les ordres  $k$  sont des nombres entiers) est utilisé, par exemple en biologie, pour indiquer l'ordre de grandeur des valeurs usuelles et en chiffrer la dispersion.

#### 2.2.2. Modalités de calcul

La plus grande difficulté dans le calcul d'un quantile est en fait le classement des observations par ordre croissant (ou décroissant), tâche particulièrement laborieuse lorsqu'elle devait se faire manuellement et sur un grand nombre de données. L'informatique allège totalement cette opération : la banalisation des micro-ordinateurs a d'ailleurs relancé l'intérêt porté à ces descripteurs.

Une fois les observations ordonnées, le quantile peut être obtenu à partir de sa position dans la suite des valeurs ordonnées  $x_i$  ou par une formule [1] dont une expression très courante pour obtenir le centile  $C_j$  est la suivante :

$$C_j = x_i + f.(x_{i+1} - x_i)$$

Dans cette expression  $i$  et  $f$  sont respectivement la partie entière et la partie fractionnaire de  $1 + \frac{j(n-1)}{100}$ . La médiane est obtenue pour  $j = 50$ .

#### 2.2.3. Propriétés statistiques

Les quantiles observés sur un échantillon sont des estimations des quantiles de la population représentée par cet

échantillon. Toute estimation doit être accompagnée d'un intervalle de confiance calculé pour un risque  $\alpha$  donné (en général le risque est de 5 %, soit  $\alpha = 0,05$ ). Mais le calcul de cet intervalle n'est aisé que lorsque l'on connaît les propriétés probabilistes de l'estimateur et tout particulièrement la loi de distribution des valeurs dans la population mère.

Le plus souvent l'estimation d'une moyenne ne pose aucun problème [1] ; en effet, si la population mère est gaussienne, la distribution des moyennes d'échantillon l'est également ; si la population mère n'est pas gaussienne, la distribution des moyennes d'échantillon converge vers une loi de Gauss lorsque la taille de l'échantillon augmente, cette convergence étant pratiquement suffisante dès que  $n > 30$  (ou  $n > 50$  lorsque la distribution mère est très dissymétrique). Les bornes de l'intervalle de confiance pour la moyenne dans la population sont alors calculées à partir de l'expression  $m \pm t \frac{s}{\sqrt{n}}$  où  $t$  est la variable de Student pour un risque  $\alpha$  donné ( $t = 1,96$  par exemple pour un risque de 5 % et un échantillon de taille suffisante) et  $s$  l'estimation de l'écart-type déduite des observations. Le calcul d'un intervalle de confiance pour un quantile et donc pour une médiane, est plus délicat car on ne connaît pas la loi de distribution des quantiles. C'est pourquoi des solutions reposant sur des méthodes de simulation [3,4] ont pu être proposées. Cependant, pour des échantillons de grandes tailles ( $n \geq 100$ ) et sous l'hypothèse d'une population mère gaussienne, on peut proposer, pour calculer les bornes de l'intervalle de confiance d'une médiane au risque  $\alpha$ , l'expression approchée :  $\tilde{x} \pm 1,25 t \frac{s}{\sqrt{n}}$ .

#### 2.2.4. Propriétés comparées de la médiane et de la moyenne

Médiane et moyenne sont les indicateurs de position les plus utilisés. Il est intéressant d'en comparer les avantages et inconvénients :

- la médiane a sur la moyenne l'avantage d'une signification simple : elle sépare la série ordonnée en deux sous-ensembles de mêmes effectifs ; 50 % des observations sont situées en dessous de sa valeur et bien évidemment 50 % le sont au-dessus. Quant à la moyenne, elle a la signification d'un centre de gravité, notion beaucoup plus délicate à interpréter en statistique descriptive ;
- la médiane est peu sensible aux données « contaminantes », tout particulièrement aux données extrêmes qui correspondent le plus souvent à des observations issues d'une autre population que celle étudiée. Ainsi, la valeur de la médiane d'un ensemble de concentrations sériques en hCG mesurées sur des femmes enceintes n'est que peu modifiée si l'on remplace une valeur normale par une valeur pathologique même très élevée. La médiane est pour cette raison désignée comme un estimateur robuste de tendance centrale. La valeur de la moyenne est plus influencée par les valeurs extrêmes ; c'est d'ailleurs la raison pour laquelle

sont parfois utilisées des moyennes tronquées (la troncature consiste à écarter des observations selon des règles diverses qui dépassent l'objet de notre exposé). Cependant, pour des échantillons de grande taille et un petit nombre de données extrêmes, l'effet reste bien souvent peu important. Soulignons à ce propos que la valeur de l'écart-type peut être plus sensiblement influencée par ces observations extrêmes que ne l'est celle d'un intervalle interquantile ;

- il est fréquent que l'on réalise, pour des raisons d'exploitation statistique, une transformation  $Y = f(X)$  de la variable  $X$  étudiée. Dans les transformations les plus usuelles, la médiane de la transformée est la transformée de la médiane ; autrement dit, la nouvelle médiane  $\tilde{y}$  se déduit très facilement de la médiane  $\tilde{x}$ . C'est le cas, par exemple, d'une transformation logarithme pour laquelle  $\tilde{y} = \log(\tilde{x})$ . En revanche, la moyenne des logarithmes n'est pas égale au logarithme de la moyenne ;
- lorsque l'on dispose des indices de position de plusieurs échantillons, ainsi que de leurs effectifs, il est toujours possible, même sans disposer des observations elles-mêmes, d'en déduire la moyenne de l'ensemble des observations ; cette propriété est souvent énoncée : la moyenne générale est la moyenne (pondérée par les effectifs) des moyennes. En revanche, on ne peut déduire la médiane de l'ensemble qu'à partir de toutes les données *poolées* en un seul échantillon : la médiane de l'ensemble ne peut se déduire de l'ensemble des médianes ;
- ainsi que déjà signalé, les propriétés statistiques de la moyenne en font un estimateur facilement exploitable car de loi probabiliste convergeant très rapidement vers une loi de Gauss lorsque  $n$  augmente. En revanche, la convergence de la loi de probabilité de la médiane est moins rapide. Par ailleurs, comme l'indiquent les formules des intervalles de confiance fournies au paragraphe précédent, l'estimation avec une même précision de la moyenne et de la médiane nécessite, avec cette dernière, un échantillon d'effectif 1,56 fois supérieur à celui exigé pour une moyenne : la moyenne est un estimateur de tendance centrale plus efficace que la médiane ;
- enfin, lorsqu'un caractère admet une distribution symétrique, médiane et moyenne ont statistiquement même valeur numérique. En revanche, en cas de dissymétrie, la moyenne est décalée par rapport à la médiane ; ainsi pour une distribution logarithmico-normale (distribution de Galton) comme l'est approximativement une distribution de MOM, la moyenne est supérieure à la médiane.

Les trois premières propriétés qui précèdent expliquent pourquoi, en statistique descriptive, la médiane est souvent préférée à la moyenne comme indicateur de position. Cependant, dès qu'il s'agit d'inférence statistique (estimation d'indicateurs de position ou comparaisons de tels indicateurs entre eux), la moyenne est plus facilement utilisable.

### 3. Médiannes, MOM et calcul de risque

Le calcul de risque fait appel à plusieurs ensembles de données dont il est bon de rappeler brièvement les rôles et les interactions. La Fig. 2 schématise les différentes étapes de ce calcul dont certains éléments sont commentés ci-dessous.

#### 3.1. Générateur de médianes et calcul de MOM

La concentration (C) d'un marqueur sérique évolue avec l'âge de la grossesse (DDG). Afin de se libérer de cet âge, toute concentration est transformée en MOM (ou multiple de la médiane). Ce MOM est obtenu en divisant la concentration mesurée par une concentration médiane correspondant à la même DDG. Cette concentration médiane est fournie par un « générateur de médianes ». Ce dernier est une équation mathématique déduite par ajustement statistique d'une fonction algébrique à un grand nombre de couples de points (DDG, C) obtenus sur des femmes ne portant pas d'enfant atteint de trisomie 21. À chaque marqueur correspond ainsi un générateur de médianes.

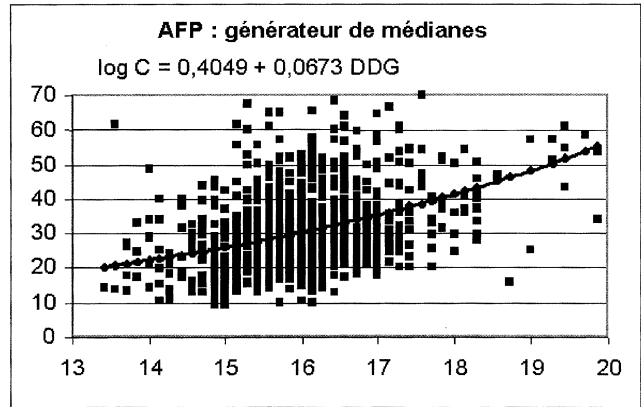


Fig. 3. Fonction génératrice de médianes pour l'AFP. Elle est obtenue par ajustement, selon les moindres carrés, d'un modèle linéaire aux logarithmes des concentrations en fonction de la date de grossesse (DDG).

En principe le nombre de couples de points exigé pour établir un tel générateur est de 500 par semaine d'aménorrhée (recommandations AFSSAPS) ; ce nombre, particulièrement important, a été proposé de façon à ce que l'incertitude sur l'estimation de la médiane induise, dans le calcul du risque, une erreur aléatoire tout au plus égale à 2,5 % [4].

La Fig. 3 illustre une telle fonction et les observations qui ont permis de la calculer. On remarquera que l'ajustement fait intervenir le logarithme des concentrations ; la raison en est que les logarithmes des concentrations sont pratiquement distribués selon une loi de Gauss et se prêtent ainsi très bien aux exploitations statistiques.

Soulignons que, dans ces ajustements, les DDG sont exprimées en jours et que chaque jour ne comporte pas obligatoirement, du fait des aléas du recrutement, le même nombre de mesures ; l'expérience montre, en effet, que certains jours sont plus représentés que d'autres au sein d'une même semaine. En conséquence, exprimer, à des fins simplificatrices, une médiane par semaine d'aménorrhée, demande certaines précautions, ne serait-ce que de l'accompagner de la valeur du jour médian de recrutement dans la semaine.

#### 3.2. MOM bruts et MOM corrigés

Le MOM calculé précédemment est un MOM brut, c'est-à-dire ne dépendant que de la concentration mesurée et de la DDG. Très généralement, il est corrigé de certains facteurs qui peuvent avoir un effet sur la concentration elle-même et donc sur le risque calculé. On peut citer en particulier le poids et le tabagisme.

Dans le premier cas la correction est obtenue en multipliant le MOM brut par un facteur déduit d'une fonction du poids ; cette fonction [6] résulte, comme le « générateur de médianes », d'un ajustement statistique à des couples de points qui sont évidemment dans ce cas des couples (Poids, MOM bruts).

La correction pour le tabagisme [8] se résume, quant à elle, à une multiplication du MOM brut par un facteur constant indépendant de la quantité de tabac consommé.

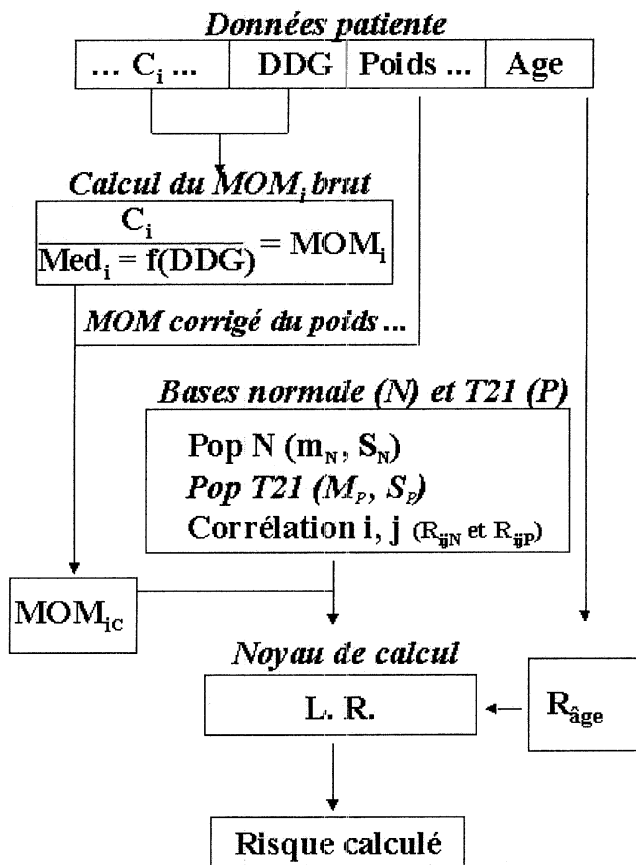


Fig. 2. Organigramme simplifié du calcul de risque de trisomie 21 fœtale (voir explications plus détaillées dans le texte). La concentration  $C_i$  du marqueur  $i$ , divisée par la médiane  $Med_i$ , fournit le  $MOM_i$ . Ce dernier est corrigé ( $MOM_{i,c}$ ) par différents facteurs dont le poids de la patiente. Compte tenu des caractéristiques des bases de données « normales » et « pathologiques » le noyau de calcul fournit le rapport de vraisemblance (LR), qui, multiplié par le risque lié à l'âge ( $R_{\text{âge}}$ ), fournit le risque calculé.

D'autres facteurs de correction sont également disponibles dans les logiciels pour prendre en compte diverses particularités : grossesse gémellaire, diabète, origine ethnique, etc.

### 3.3. Bases de données « normales » et bases de données « pathologiques »

- La base de données « normale » d'un marqueur est un ensemble de logarithmes de MOM de concentrations de ce marqueur, obtenues sur un grand nombre de femmes non porteuses d'enfant trisomique. La distribution de ces log de MOM est considérée comme gaussienne et résumée par sa moyenne ( $m_N$ ) et son écart-type ( $s_N$ ). À chaque marqueur est ainsi associé un couple ( $m_N, s_N$ ) ; pour chacun d'eux  $m_N = 0$ . Cette base peut d'ailleurs être celle qui a permis de construire le générateur de médiane et il est important de souligner ici le lien entre cette base et le générateur ;
- la base de données « pathologique » d'un marqueur est un ensemble de logarithmes de MOM de concentrations de ce marqueur, obtenues sur un grand nombre de femmes porteuses d'un enfant trisomique. La distribution de ces log de MOM est considérée comme gaussienne et résumée par sa moyenne ( $m_P$ ) et son écart-type ( $s_P$ ). À chaque marqueur est ainsi associé un couple ( $m_P ; s_P$ ) ;
- ces bases permettent également de déterminer des coefficients de corrélation ( $R$ ) entre les logarithmes des MOM des différents marqueurs.

Ce sont ces moyennes, écart-types et coefficients de corrélation et non les valeurs individuelles des log des MOM de ces ensembles, qui sont utilisés pour le calcul du risque.

Précisons que bien souvent ces caractéristiques ne découlent pas toutes d'une étude unique mais d'une « méta-analyse », tout particulièrement celles qui font intervenir la population « pathologique » ; en effet, il n'est pas aisé de regrouper, sur une seule étude prospective, suffisamment de données « pathologiques » pour estimer avec assez de précision les caractéristiques de position (moyennes), de dispersion (écarts-types) et de liaison (coefficients de corrélation) ; c'est pourquoi certaines de ces caractéristiques ont des valeurs déduites de sources d'origines géographiques et temporelles différentes.

### 3.4. Risque lié à l'âge de la patiente

On sait que le risque de trisomie 21 fœtale augmente avec l'âge de la mère. Là encore, des études statistiques ont permis de quantifier cette évolution en la résumant par une fonction mathématique [7–9] ; la connaissance de l'âge de la mère permet donc un calcul immédiat de ce risque lié à l'âge ( $R_A$ ), risque généralement rapporté au jour où le prélèvement a été effectué.

### 3.5. Le calcul de risque

Ce calcul est assuré [3] par un « noyau de calcul » qui, prenant en compte les MOM corrigés des différents marqueurs dosés et les caractéristiques des bases de données « normales » et « pathologiques », fournit un rapport de vraisemblance (LR) ou *likelihood ratio*. Le risque finalement calculé (RC) est le produit  $LR.R_A$ .

## 4. Le suivi des médianes des concentrations et des MOM

Lorsqu'un laboratoire agréé procède à l'évaluation du risque de trisomie 21 fœtale par les marqueurs sériques, il accumule au cours du temps, un nombre croissant de concentrations des différents marqueurs et un nombre égal de MOM. Il peut s'assurer très rapidement que les données acquises sont en accord avec celles qui ont permis de construire le « générateur de médianes » et même, en accumulant ses observations, s'assurer qu'elles le sont avec celles qui ont permis de définir la base de données « normale ». Comme nous allons le voir, ce suivi est très simple bien qu'il fasse appel à des notions statistiques et puisse faire intervenir un nombre assez important d'observations ; il peut conduire à proposer un nouveau générateur de MOM à la place de l'ancien, changement qui doit se faire avec précautions et après en avoir analysé les conséquences sur le calcul des risques.

### 4.1. Suivi des médianes des concentrations

C'est en apparence l'approche la plus simple. Puisque le laboratoire dispose assez rapidement d'un nombre suffisant de concentrations par SA (une centaine ou plus), il lui est alors possible, au moins théoriquement, de comparer statistiquement la médiane des concentrations accumulées dans chaque SA à celle donnée par le générateur pour la même SA. Cela n'est faisable que dans la mesure où le générateur est construit pour fournir cette médiane par semaine ; si c'est le cas, il faut s'assurer que, pour chaque semaine, la médiane des jours de recrutement est bien en accord avec celle du générateur de médianes.

Si ce choix est envisagé, il faut utiliser, pour les comparaisons statistiques, les logarithmes des concentrations ; en effet, dans ce cas, comme souligné précédemment, les médianes peuvent être considérées comme des variables gaussiennes et facilement comparées par un test de Student [4].

L'inconvénient de cette approche est de nécessiter des comparaisons multiples de médianes (semaine à semaine) ce qui peut faire apparaître à tort des différences significatives ou plus délicat encore, des comparaisons de médianes qui ne correspondent pas à des jours médians identiques.

#### 4.2. Suivi des médianes des MOM

Si les concentrations mesurées sont en accord avec celles qui ont servi à définir le générateur, la médiane des MOM obtenus au cours du temps ne doit pas différer statistiquement de la valeur 1 et la médiane des logarithmes de ces MOM de la valeur 0. Rappelons que les logarithmes des MOM se distribuent pratiquement selon une loi de Gauss dont l'écart-type est statistiquement celui de la population « normale ».

Une première approche consiste tout simplement à calculer la médiane de ces MOM et à s'assurer qu'elle ne diffère pas statistiquement de 1 (ou plus facilement, que la médiane des logarithmes des MOM ne diffère pas de la valeur 0) [4].

On peut également procéder à une exploitation plus historique qui permet en outre de visualiser les fluctuations aléatoires des médianes des MOM. Pour ce faire on peut :

- regrouper les MOM successifs en ensembles de  $n$  MOM ( $n \geq 100$ ) ;
- calculer la médiane de chacun de ces groupes ;
- et porter le logarithme de chacune d'elles sur un diagramme de Levey-Jennings.

Les limites entre lesquelles doivent se situer les logarithmes de ces médianes peuvent être définies, par exemple, par deux fois l'écart-type  $1,25 \frac{s_N}{\sqrt{n}}$  ; le risque d'observer des points en dehors de ces limites, du seul fait du hasard, est alors voisin de 5 %. On peut tout aussi bien représenter les médianes des MOM plutôt que leurs logarithmes ; dans ce cas la cible est 1 et les limites entre lesquelles doivent évoluer les médianes successives se déduisent des limites précédentes par transformation inverse ; elles ne sont plus alors situées symétriquement par rapport à la cible.

La médiane des logarithmes de ces groupes successifs ne doit pas différer statistiquement de zéro. Si c'était le cas, il pourrait être nécessaire de « recalibrer » le générateur de médianes à partir des concentrations acquises par le laboratoire. Soulignons que cette nouvelle calibration du générateur de médianes ne peut être faite qu'avec l'accord de l'industriel responsable des réactifs et du logiciel, après avoir comparé statistiquement le nouveau générateur à l'ancien et mesuré l'effet d'un éventuel changement sur les risques antérieurement calculés.

#### 4.3. Suivi des écarts-types des logarithmes des MOM

On peut en outre suivre la dispersion des logarithmes des MOM au sein de chaque groupe ; la distribution des écarts-types de ces ensembles doit être en accord avec l'écart-type  $s_N$  de la population « normale » ; ce suivi peut également se faire à l'aide d'un diagramme de Levey-Jennings où la cible est  $s_N$  et où les limites de dispersion autour de cette cible sont, par exemple,

$$\pm 2 \frac{s_N}{\sqrt{2n}} \quad (10)$$

	A	B	C	D	E	F	G
	MOM	log(MOM)	AD1	AD2	Médianes	Moyennes	E. Types
2	0,42	-0,37	b2	b101	0,0036	0,0041	0,2387
3	1,78	0,25	b102	b201	0,0365	0,0375	0,2489
4	0,55	-0,26	b202	b301	-0,0322	-0,0147	0,2317
5	1,11	0,05	b302	b401	-0,0312	-0,0314	0,1816
6	1,35	0,13	b402	b501	0,0091	-0,0006	0,2231
7	1,81	0,26	b502	b601	-0,0400	-0,0107	0,2582
8	2,69	0,43	b602	b701	0,0468	0,0568	0,2291
9	1,18	0,07	b702	b801	-0,0201	-0,0135	0,2220
10	1,33	0,12	b802	b901	-0,0124	-0,0138	0,2220
11	0,34	-0,46	b902	b1001	0,0083	0,0103	0,2220
12	1,81	0,26					
13	1,93	0,29					
14	1,06	0,02					
15	2,12	0,33					
16	1,07	0,03					
17	0,78	-0,11					

Fig. 4. Calculs, par adressage indirect, de médianes, moyennes et écarts-types de groupes de 100 MOM successifs à l'aide du tableur Excel® de Microsoft.

Ce suivi permet de vérifier la bonne adéquation de la dispersion des MOM avec la caractéristique de dispersion  $s_N$  de la population normale. Cette vérification est d'autant plus utile que les caractéristiques de la population « normale » ont pu être définies par méta-analyse. En cas de désaccord, la dispersion  $s_N$  de la population « normale » pourrait être remise en cause.

#### 4.4. Exemples

Tous les logiciels ne permettent pas de suivre pas à pas les MOM calculés ; cependant ils disposent en général de moyens d'exportation des données sur tableur offrant ainsi au biologiste la possibilité de récupérer les informations accumulées au cours du temps pour procéder à leur exploitation.

Nous donnons ici quelques exemples simplifiés de suivis de MOM réalisés sur le tableur Excel® de Microsoft.

##### 4.4.1. Le calcul des médianes des groupes de $n$ MOM

La série des MOM bruts à analyser est exportée dans une colonne du tableur (colonne A de la Fig. 4) ; ces MOM sont dans l'ordre où ils ont été calculés par le logiciel de calcul de risque. Les logarithmes de ces MOM sont situés dans la colonne B. Les deux colonnes C et D définissent des adresses qui permettront, grâce aux fonctions de calcul du tableur, l'obtention facile des médianes des ensembles de MOM : la colonne C contient les adresses des premières valeurs et la colonne D celles des dernières valeurs des groupes de MOM ; ainsi les adresses B2 et B101 font référence au premier groupe des log de MOM situés dans la colonne B de la ligne 2 à la ligne 101 ; les groupes choisis ici comportent chacun 100 observations. La colonne E contient les médianes de ces groupes successifs ; ainsi la médiane donnée en E2 est celle du groupe des 100 premiers MOM de la série.

Les colonnes F et G contiennent, en complément, les moyennes et écarts-types des groupes de ces  $n$  MOM.

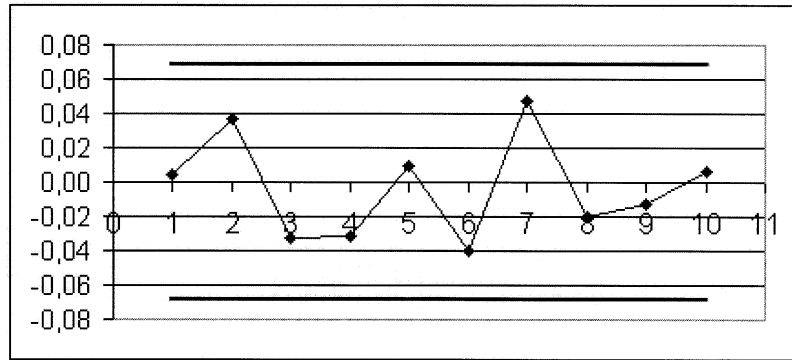


Fig. 5. Carte de Levey-Jennings illustrant le suivi des médianes de groupes de 100 logarithmes de MOM successifs (fraction libre de l'hCG). Les limites de confiances à 95 % sont déduites de l'écart-type de la base « normale » et des propriétés statistiques des médianes.

#### 4.4.2. Exemples de suivis par cartes de Levey-Jennings

La Fig. 5 est un exemple de suivi de médianes de MOM de la fraction libre de l'hCG ; le tracé est obtenu à partir de la fonction graphique du tableur : « Nuage de points reliés par une courbe » appliquée aux médianes. Les limites de variations ( $0 \pm 2$  écart-type de la médiane) sont obtenues sur le graphique avec la même fonction appliquée à des colonnes contenant ces limites.

Comme on peut le voir, les médianes des logarithmes des MOM se dispersent autour de la cible 0 et sans dépasser les limites ; aucun groupement particulier de points n'est mis en évidence. Enfin, la médiane de l'ensemble de toutes les observations est 0,003, valeur qui ne diffère pas statistiquement ( $p = 0,45$ ) de la valeur cible 0.

- La Fig. 6 est un autre exemple ; il s'agit de log de MOM d'AFP. Les médianes présentent un décalage négatif par rapport à la cible. La médiane de l'ensemble est  $-0,029$  valeur significativement différente de la médiane théorique 0 ( $p < 10^{-5}$ ).
- La Fig. 7 illustre le suivi des fluctuations des log des MOM des concentrations de l'AFP précédente ; chaque point représente l'écart-type d'un groupe de log de MOM ; la cible est définie par l'écart-type  $s_N$  de la population normale ; les limites sont déduites de la formule indiquée précédemment. Les écarts-types des groupes successifs de log de MOM sont en moyenne décalés par rapport à la cible (0,165) : 12 des 20 points portés sur le diagramme sont situés en dessous de la limite inférieure ; les log des MOM fluctuent donc

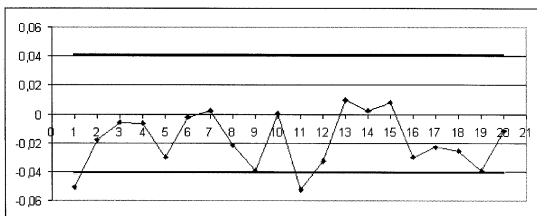


Fig. 6. Carte de Levey-Jennings illustrant le suivi des médianes de groupes de 100 logarithmes de MOM successifs d'AFP. L'ensemble est situé en moyenne en dessous de la cible 0.

moins qu'attendu. Au vu de ces résultats on peut penser que l'écart-type  $s_N$  a été surestimé.

#### 4.4.3. Réajustement d'un générateur

Le calcul d'un nouveau générateur de MOM peut se faire simplement en ajustant, par la méthode des moindres carrés, une fonction aux couples de points (DDG, concentrations). Certains logiciels de calcul de risque proposent plusieurs fonctions ; l'une des plus simples est la fonction linéaire en coordonnées semi-logarithmiques :  $\log(\text{concentration}) = a + b \cdot \text{DDG}$ . Les paramètres  $a$  et  $b$  sont facilement obtenus à partir de la fonction « courbe de tendance » du tableur appliquée aux DDG et concentrations ou par tout autre logiciel statistique.

On remarquera que cet ajustement selon les moindres carrés repose sur l'usage de moyennes et non de médianes ; ce fait a peu d'incidence sur les résultats puisque les logarithmes des concentrations sont distribués, quotidiennement, selon des lois de Gauss. Comme dans tout ajustement, il est bon de s'entourer de quelques précautions, en particulier de procéder à une analyse des résidus et à l'élimination éventuelle de points trop influents [1]. La Fig. 3 est un exemple de réajustement.

Enfin, il faut rappeler que les MOM sont fonctions du poids de la patiente et du tabagisme. Le réajustement d'un générateur pourra alors être fait en plusieurs étapes : ajustement sur des patientes non fumeuses, révision de l'influence des facteurs poids et tabagisme. On trouvera en [2] un bon exemple d'une telle exploitation.

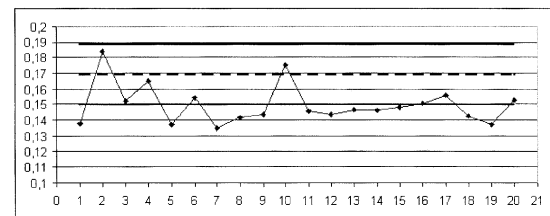


Fig. 7. Carte de Levey-Jennings illustrant le suivi des écarts-types de groupes de 100 logarithmes de MOM successifs d'AFP. La dispersion des MOM est moindre que celle attendue.

#### 4.4.4. Comparaison des deux générateurs

Lorsque l'on a défini un nouveau générateur de médianes, il est indispensable de le comparer au précédent ; on ne doit pas se contenter d'une comparaison intuitive : une comparaison statistique est indispensable. Dans le cas de la fonction linéaire précédente, la comparaison statistique des générateurs est aisée. Si l'on ne dispose pas des données individuelles qui ont servi à définir le générateur initial, on pourra, par défaut, comparer statistiquement les paramètres  $a$  et  $b$  trouvés aux paramètres  $a_0$  et  $b_0$  de ce générateur considérés comme des valeurs estimées sans erreur. Dans le cas contraire, on procédera à la comparaison des pentes puis des ordonnées à l'origine en utilisant toutes les données ; on trouvera en [3] le détail de ces calculs qui peuvent être facilement programmés sur une feuille Excel® ou effectués par un logiciel approprié. En cas de différence significative, on pourra envisager un changement de générateur.

#### 4.4.5. Effet sur les risques calculés

Avant d'opter définitivement pour le nouveau générateur, il est naturel de vérifier quel est l'impact de ce changement sur les MOM et les risques calculés.

La Fig. 8 représente la distribution des médianes des groupes des logarithmes de MOM de la Fig. 6 recalculés avec le nouveau générateur. On constate un très bon recentrage sur la cible 0 : la moyenne des médianes est 0,0005 ; cette valeur ne diffère pas statistiquement ( $p = 0,92$ ) de la valeur cible 0. Dans cet exemple, les MOM d'AFP étaient donc sous estimés ; d'autre part, le générateur de médianes relatif à la bêta hCG libre donnait quant à lui, sur les mêmes prélèvements, des MOM surestimés (moyenne des log des MOM = 1,09, valeur significativement différente de la valeur cible 1). La conséquence est a priori une augmentation du nombre de femmes à risque. Après réajustement des deux générateurs, les MOM puis les risques ont été recalculés, ramenant ainsi le nombre d'amniocentèses de 6,1 % à 4,9 % : on voit donc l'importance de tels suivis.

Le recalcul, à titre de vérification, des risques à partir des nouveaux MOM n'est pas disponible dans les logiciels de calcul. Il peut être effectué sur le tableur pris pour exemple mais demande un travail relativement lourd ; il est naturellement nécessaire pour cela de disposer de toutes les informa-

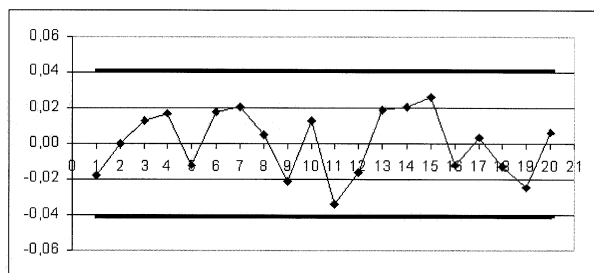


Fig. 8. Carte de Levey-Jennings des médianes de la Fig. 6 recalculés à partir du nouveau générateur de médianes. Les médianes des logarithmes sont centrées sur la cible 0.

tions utiles au calcul (caractéristiques des bases de données « normales » et « pathologiques », formule donnant le risque lié à l'âge, algorithmes de prises en compte du poids et du tabagisme) ; ces informations sont généralement disponibles dans la notice du logiciel ou auprès du fabricant.

Enfin, si l'on envisage de changer le générateur de médiane, soulignons qu'il faut obtenir l'accord de l'industriel et conserver toutes les preuves et arguments en faveur de ce changement.

## 5. Conclusion

La maîtrise de la qualité a toujours été une priorité pour la Biologie. Grâce aux automates actuellement disponibles sur le marché et en appliquant strictement des règles élémentaires (utilisation et suivi de sérums de contrôles dans chaque série de mesure, calibrations fréquentes, maintenances régulières), il est possible d'effectuer des mesures de très bonne précision se traduisant par des coefficients de variation de quelques pour cents.

Ces performances sont particulièrement les bienvenues quand il s'agit du calcul de risque de trisomie 21 fœtale par les marqueurs sériques car l'algorithme de calcul amplifie l'erreur analytique et son impact sur le risque calculé [4].

Cependant, la transformation de la concentration d'un marqueur en MOM peut être accompagnée d'une erreur systématique due à un générateur de médianes biaisé. Ce biais doit être détecté car il peut être à l'origine d'un nombre trop élevé d'amniocentèses ou de faux négatifs. Il peut être décelé par l'exploitation de la médiane des MOM dont la valeur doit être statistiquement égale à l'unité. C'est pourquoi nous avons proposé dans ce travail une approche possible par carte de Levey-Jennings, après avoir précisé les propriétés statistiques de la médiane et souligné les relations entre le générateur et les caractéristiques des bases de données utilisées dans le calcul. Le suivi des médianes des logarithmes des MOM est préférable à celui des médianes des MOM pour des raisons de qualités statistiques. L'usage du logarithme des moyennes des MOM est également possible puisque les logarithmes des MOM suivent une loi de Gauss. Cependant, si ce choix est fait, il est prudent de procéder éventuellement à des troncatures afin d'écarter les MOM anormalement élevés.

Une carte de Levey-Jennings concernant les écarts-types des logarithmes des MOM peut permettre également de vérifier si les fluctuations statistiques de ces MOM sont bien en accord avec les caractéristiques de dispersion des bases de données. Enfin il est important que ce travail soit fait, non seulement au niveau de chaque laboratoire, mais aussi au niveau de club d'utilisateurs d'une même technique de mesure du risque de trisomie 21 fœtale et doit être complété, entre autres, par le suivi des fréquences des femmes classées à risque.



## Références

Ne sont proposées ci-dessous que quelques références sur l'évaluation de risque de trisomie 21, en lien direct avec les propos de l'article. Les lecteurs pourront trouver facilement dans diverses revues, ainsi que via internet, des informations complémentaires sur le calcul de risque de trisomie 21 fœtale par les marqueurs sériques.

- [1] Besnard JC, Morin JF. Immunostat : outils statistiques en immuno-analyse. Paris: Ed Nucléon; 1997.
- [2] Dancoine F, Couplet G, Mainardi A, Sukno F, Jaumain P, Nowak E, et al. Dépistage anténatal de la trisomie 21 par les marqueurs sériques : étude des facteurs poids, tabac et diabète maternel. *Immunoanal Biol Spéc* 2001;16:381–9.
- [3] Morin V, Morin JF, Moineau MP, Codet JP. L'évaluation du risque de trisomie 21 explorée par simulation numérique aléatoire. *Immunoanal Biol Spéc* 1999;14:166–74.
- [4] Morin V, Morin JF, Moineau MP, Codet JP. Détermination par ré-échantillonnages *bootstrap* de la statistique des médianes utiles au calcul de risque de trisomie 21 à l'aide des marqueurs sériques maternels. *Immunoanal Biol Spéc* 1999;14:401–6.
- [5] Morin JF, Moineau MP. Communication à la réunion annuelle de l'Association des Biologistes agréés pour l'usage des marqueurs sériques (ABA), Neuilly. Juin 2000.
- [6] Neveux LM. Refinements in managing maternal weight adjustment. *Prenatal Diagnosis* 1996;16:1115–9.
- [7] Snijders RJM, Sundberg K, Holzgreve W, Henry G, Nicolaides KH. Maternal age and gestation specific risk for trisomy 21. *Ultrasound Obstet Gynecol* 1999;13:167–70.
- [8] Spencer K. The influence of smoking on maternal serum AFP and free  $\beta$  hCG levels. *Prenatal Diagnosis* 1998;234.
- [9] Wald NJ, Cuckle HS, Densem JM. Maternal serum screening for Down's syndrome in early pregnancy. *Br Med J* 1988;297:883–7.