

Annales du Contrôle National de Qualité des Analyses de Biologie Médicale

Dépistage néonatal :
hypothyroïdie (TSH)
hyperplasie des surrénales (17 OH-progestérone)
phénylcétonurie (phénylalanine)

Michèle NOEL (Afssaps, Saint-Denis)
Jean-Louis DHONDT (CH St Philibert, Lomme)

	06DNN1
Expédition	13/12/06
Clôture	08/01/07
Edition des compte-rendus individuels	26/04/07
Paramètres contrôlés : Echantillons	Phénylalanine : P611 17OH-Progestérone : H611 TSH : T611
Nombre de laboratoires concernés*	27
Nombre de laboratoires participants**	25

* Laboratoires ayant déclaré à l'Afssaps pratiquer les analyses concernées par l'envoi

**Laboratoires ayant retourné un bordereau-réponse correctement identifié par le code laboratoire, avant la date de clôture de l'opération

Résumé de l'opération 2006

En 2006, 5 maladies font l'objet d'un dépistage néonatal au niveau national : phénylcétonurie (PCU), hypothyroïdie congénitale (HC), hyperplasie congénitale des surrénales (HCS), drépanocytose (HbS) et depuis peu, mucoviscidose (CF). Trois paramètres permettant le dépistage de la PCU (phénylalanine), de l'HC (TSH) et de l'HCS (17 OH-progestérone) ont été contrôlés en 2006 lors d'une opération.

Au total 27 laboratoires étaient concernés, en fonction de l'activité déclarée, ils ont reçu les échantillons pour dosage de la phénylalanine et /ou les échantillons pour dosage de la TSH et de la 17OH-progestérone. Les résultats de la TSH sur l'échantillon T611 n'ont pas pu être exploités en raison de l'hétérogénéité du lot de fabrication.

Les résultats observés sont globalement satisfaisants : bonne participation des laboratoires (27 envois, 2 incidents de livraison, 25 réponses), utilisation de techniques présentant une précision correcte, démarche (arbre décisionnel) identique pour tous les laboratoires. Il faut toutefois noter que pour la 17OH-Progestérone, les données 2004 et 2005 se confirment : les résultats sont clairement dépendants du réactif.

Méthode statistique et expression des résultats

Le traitement statistique des données comporte plusieurs étapes :

- Calcul de la valeur cible : vu le faible nombre de résultats, c'est la médiane, tous réactifs confondus ainsi que la médiane pour chaque trousse de réactif qui est utilisée. Cette dernière n'est calculée que si l'effectif est supérieur à 3.
- Calcul des paramètres estimant la dispersion : coefficient de variation tronqué (CV Tr) et espace interquartile. Si l'effectif est supérieur à 9, le CV Tr (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 ± 2 écarts-types. L'espace interquartile représente l'intervalle centré sur la médiane qui comprend 50% de l'ensemble des données. Seul le CV Tr sera donné dans les tableaux de résultats. La moyenne tronquée (mTr) qui a permis de calculer le CV Tr est également donnée.
- Comparaison des résultats par des tests non paramétriques (test U de Mann et Whitney). Les résultats sont significativement différents si $p < 0,05$.
- Réponse consensus : elle est définie, pour un échantillon donné, comme étant la réponse exprimée par au moins 75% des laboratoires.

NB : Selon le niveau de concentration de l'échantillon envoyé, chaque laboratoire est amené à le doser 1 ou 2 fois. L'ensemble des résultats est pris en compte lors des calculs statistiques.

Définition des échantillons

Les échantillons envoyés sont des taches de sang d'origine humaine séchées. Le sang utilisé pour fabriquer les échantillons est ajusté à l'hématocrite d'un sang de nouveau-né puis déposé sur papier Schleicher et Shüll / Whatman 903.

Pour chaque paramètre, un échantillon constitué de trois taches de sang séché a été envoyé afin que la procédure analytique puisse être identique à celle appliquée pour un prélèvement de nouveau-né, à savoir premier test en simple, et contrôle en double si le premier résultat est supérieur au « seuil de retest ».

Résultats des participants

17OH-Progestérone

Les résultats concernant le dosage de la 17 OH-Progestérone dans le cadre du dépistage néonatal sont donnés dans le tableau I.

Comme en 2004 et en 2005, deux trousse de dosage ont été utilisées par les laboratoires. Neuf laboratoires ont utilisé la trousse Cis bio international (technique isotopique) et treize laboratoires, la trousse Perkin Elmer (technique immunométrique).

Compte-tenu du faible volume de sang total (2 μ l) utilisé pour réaliser ce dosage, la précision inter-laboratoire de chaque trousse est tout à fait correcte avec des CV Tr inférieurs à 15%, pour la zone de concentration étudiée (environ 90 nmol/l). Les 2 trousse ont des précisions équivalentes (différence statistiquement non significative).

Les résultats obtenus en fonction de la trousse utilisée sont illustrés sur les figures 1 et 2. Pour l'échantillon H611, la trousse Cis bio international donne des résultats significativement plus élevés que la trousse Perkin Elmer (test U de Mann-Whitney, $p < 0,0001$). Tous les résultats rendus étaient au dessus du seuil décisionnel (figure 2).

En 2004 et en 2005, pour des échantillons de concentration équivalente (H413, H422 et H511) un écart était également noté entre les résultats rendus avec la trousse Cis bio international et ceux rendus avec la trousse Perkin Elmer. L'écart inter-technique (29,3% en 2006) a légèrement diminué (Figure 3).

Une interprétation des résultats était demandée. Les interprétations suivantes pouvaient être données :

- au vu du premier résultat : « résultat normal » si le résultat est inférieur à un seuil appelé « seuil de retest » ou « confirmation du premier résultat par un second dosage » si le résultat est supérieur au « seuil de retest » ;

- au vu des seconds résultats : « résultat normal » pour un résultat inférieur à un second seuil dit « seuil décisionnel » ou « résultat pathologique » si le résultat dépasse le « seuil décisionnel ».

L'interprétation finale de ces résultats par les biologistes (tableau II) est satisfaisante. Un seul laboratoire n'a pas rendu de conclusion.

tableau I – Résultats obtenus pour la 17OH-Progestérone.

Opération	Echantillon	Code	Distributeur	n	Médiane*	mTr*	CV Tr (%)
06DNN1	H611	-	Tous réactifs	42	91,8	95,7	17,9
		AN	Cis bio international	18	110,3	108,8	13,5
		KC	Perkin Elmer	24	83,4	85,0	11,8

* exprimé en nmol/l de sang total

tableau II – Récapitulatif des interprétations données lors de l'opération 06DNN1 pour le dépistage de l'HCS.

Opération	Echantillon	médiane* (nmol/l)	Interprétation consensus	Nb de laboratoires en accord avec le consensus
06DNN1	H611	91,8	Résultat pathologique	20 / 21**

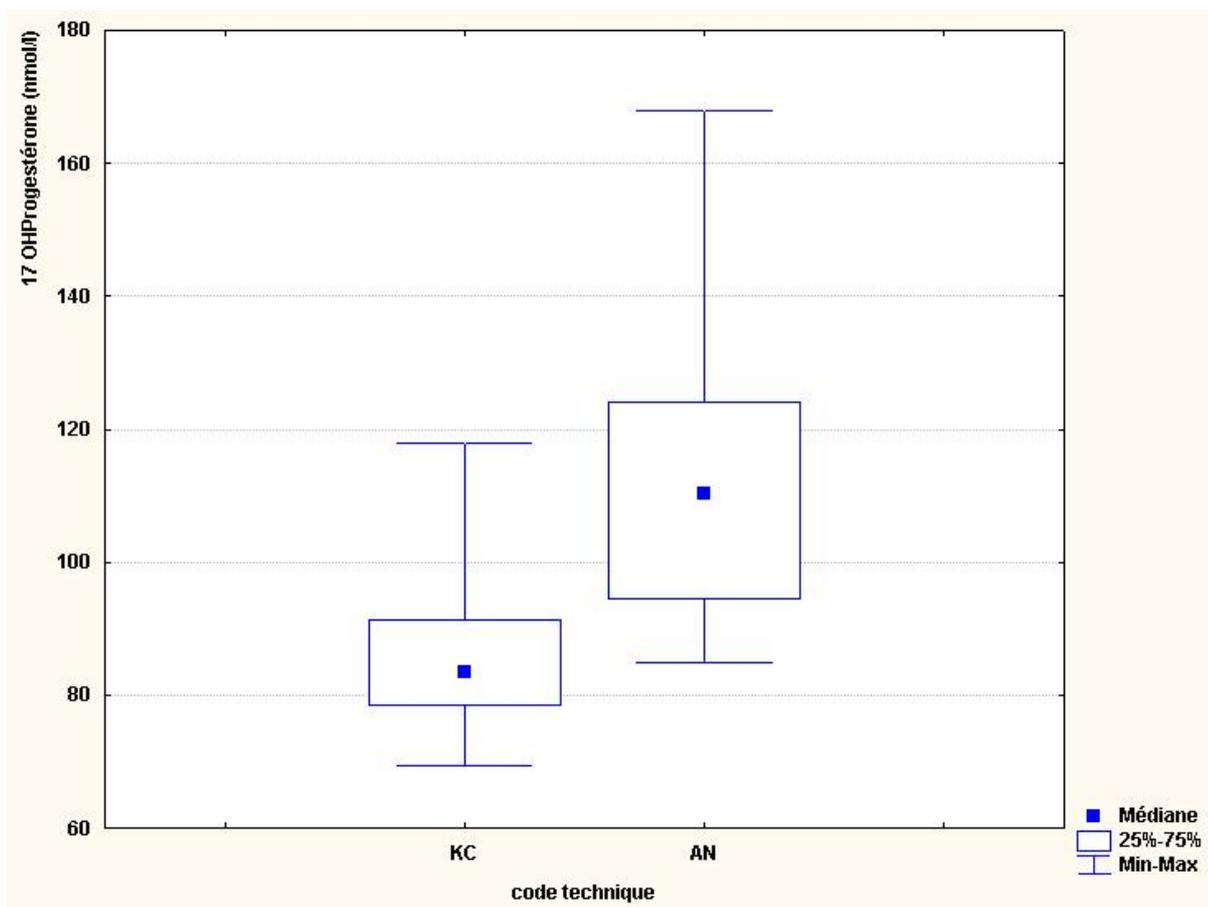
* médiane tous réactifs

** un laboratoire n'a pas rendu de conclusion.

NB: les seuils recommandés par l'Association Française pour le Dépistage et la Prévention des Handicaps de l'Enfant (AFDPHE) sont 50 nmol/l pour le « seuil de retest » (contrôle du résultat en duplicate) et 60 nmol/l pour le « seuil décisionnel » (demande d'un second prélèvement ou convocation du nouveau-né). La conclusion « résultat pathologique » doit être rendue lorsque le résultat est supérieur au « seuil décisionnel » après contrôle en duplicate.

figure 1 : Diagramme « boîte et moustaches » des résultats obtenus pour la 17OH-progestérone lors de l'opération 06DNN1 en fonction du réactif utilisé.

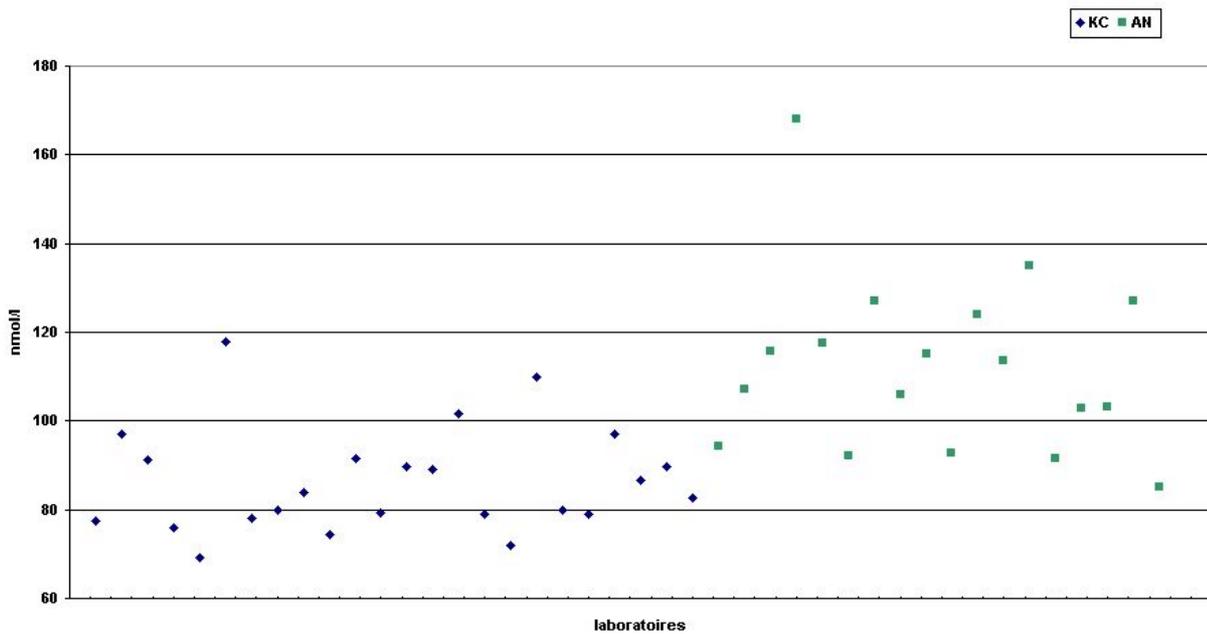
La « boîte » représente l'espace interquartile (percentile 75 – percentile 25) avec la médiane (point), les « moustaches » positionnent les valeurs maximales et minimales obtenues.



AN : trousse Cis bio international

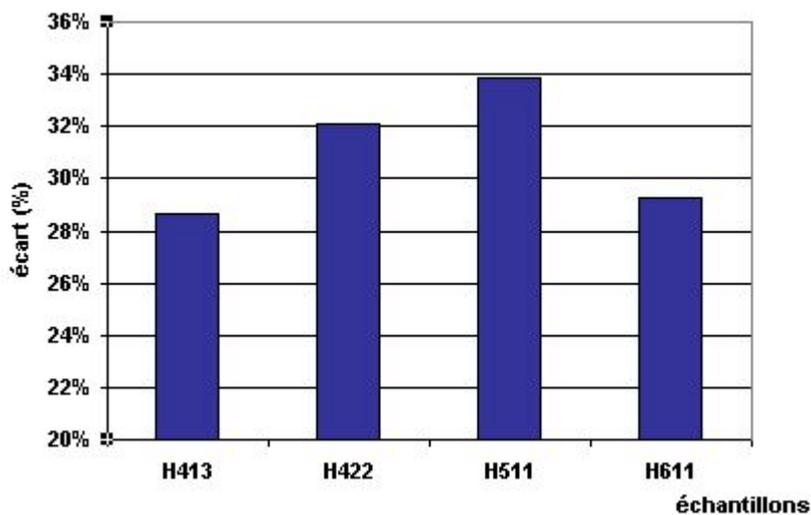
KC : trousse Perkin Elmer

figure 2 : Résultats individuels obtenus pour la 17OH-Progestérone lors de l'opération 06DNN1.



AN : trousse Cis bio international
 KC : trousse Perkin Elmer

figure 3 : Récapitulatif des écarts intertechniques pour le dosage de la 17OH-Progestérone avec des échantillons présentant des concentrations équivalentes pour les opérations 2004, 2005 et 2006.



TSH

L'exploitation des résultats de l'échantillon T611 a été annulée en raison d'un problème de fabrication des échantillons (mauvaise homogénéité du lot).

Phénylalanine

Les résultats concernant le dosage de la phénylalanine sur sang séché sont donnés dans le tableau III.

Deux techniques de dosage ont été utilisées par les laboratoires. La grande majorité des laboratoires (17 / 21) dosent la phénylalanine grâce à une technique fluorimétrique (6X). La trousse Bio-Rad (QU), qui est une méthode enzymatique colorimétrique, est utilisée systématiquement par 4 laboratoires et seulement pour contrôler les résultats du premier dosage par 2 autres laboratoires.

La précision de chaque technique est correcte, les CV Tr se situent aux alentours de 10% (6X : 11,6% et QU : 8,5%) et sont du même ordre que ceux obtenus en 2004 et en 2005 pour des concentrations similaires (6X : 10,6% en 2004, 9,9% en 2005 et QU : 6,8% en 2004, 8,9% en 2005).

Les résultats obtenus en fonction de la technique utilisée sont illustrés sur les figures 4 et 5. Pour l'échantillon P611, les résultats sont comparables quelle que soit la technique utilisée.

Une interprétation des résultats obtenus était demandée. L'interprétation finale des résultats par les biologistes (tableau IV) est satisfaisante, même lorsque celle-ci est en désaccord avec l'interprétation consensus, elle reste logique en regard du résultat obtenu par le laboratoire et de son seuil décisionnel.

tableau III – Résultats obtenus pour la phénylalanine.

Opération	Echantillon	Code	Distributeur	n	Médiane*	mTr*	CV Tr (%)
06DNN1	P611	-	Tous réactifs	42	219,3	222,5	11,5
		QU	Bio-Rad	10	210,4	208,5	8,5
		6X	manuelle	32	223,0	227,2	11,6

*exprimé en $\mu\text{mol/l}$ de sang total

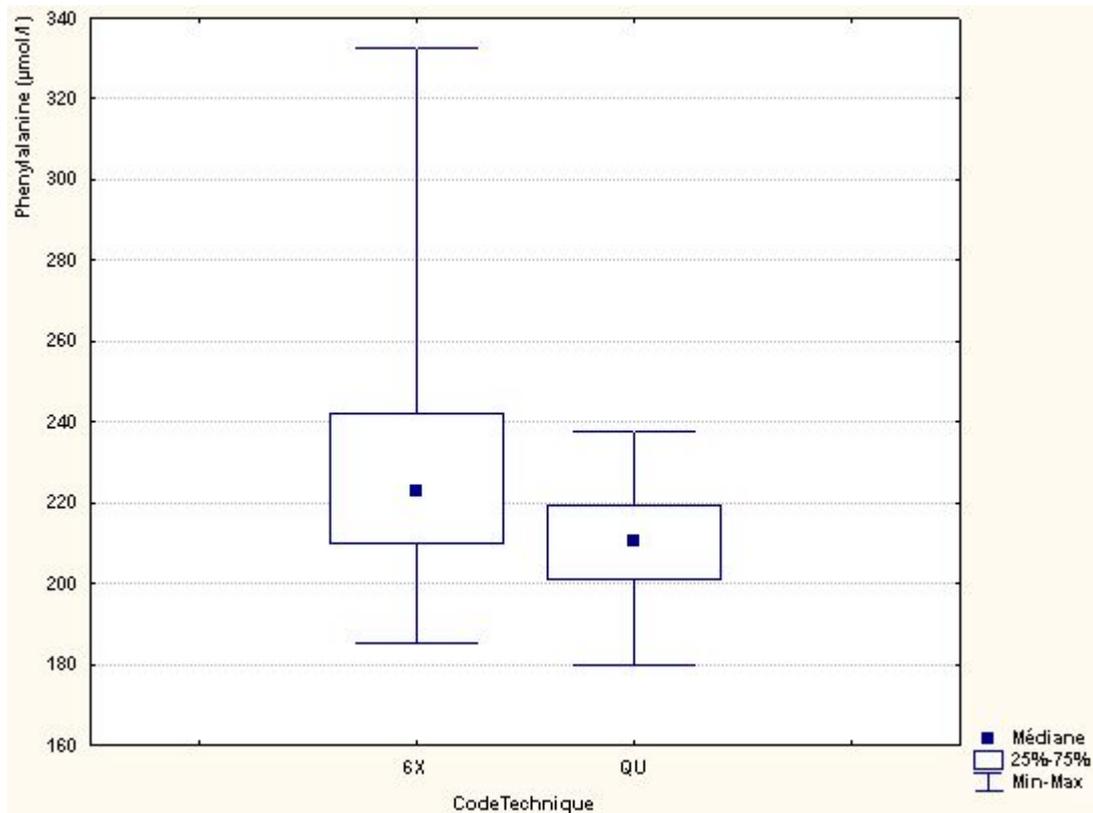
tableau IV – Récapitulatif des interprétations données lors de l'opération 06DNN1 pour le dépistage de la PCU.

Opération	Echantillon	médiane* ($\mu\text{mol/l}$)	Interprétation consensus	Nbre de laboratoires en accord avec le consensus
06DNN1	P611	219,3	Résultat pathologique	19 / 21

* médiane tous réactifs

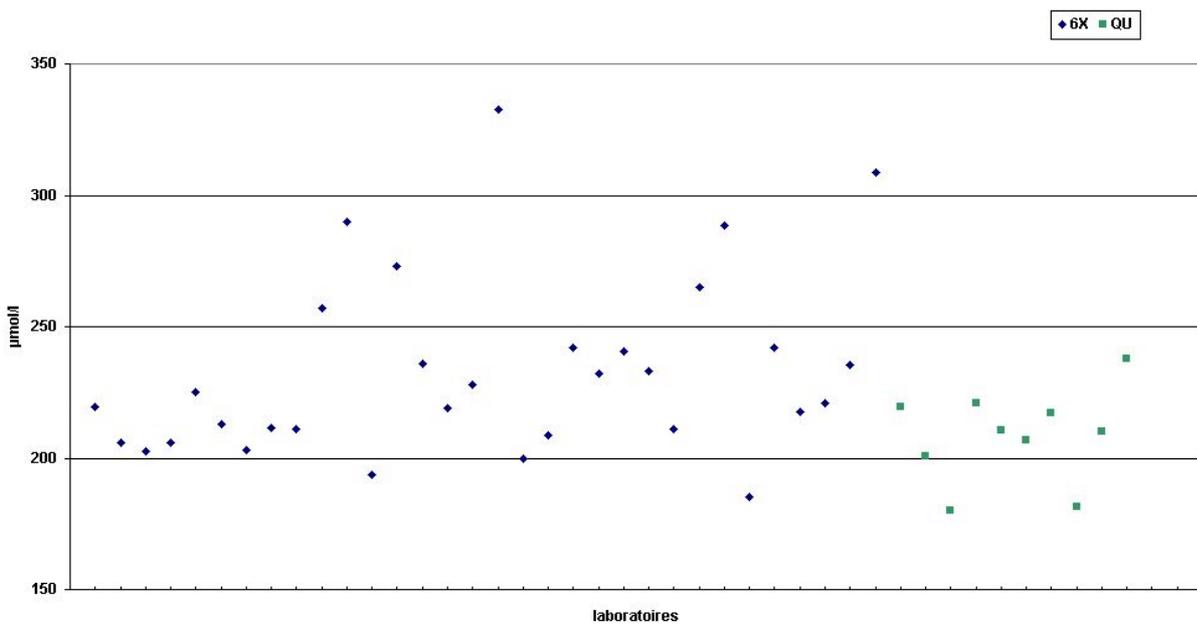
NB: les seuils recommandés par l'AFDPHE sont 150 $\mu\text{mol/l}$ pour le « seuil de retest » (confirmation du résultat en duplicate) et 180 $\mu\text{mol/l}$ pour le « seuil décisionnel » (demande d'un second prélèvement ou convocation du nouveau-né).

figure 4: Diagramme « boîte et moustaches » des résultats obtenus pour la phénylalanine lors de l'opération 06DNN1 en fonction du réactif utilisé. La « boîte » représente l'espace interquartile (percentile 75 – percentile 25) avec la médiane (point), les « moustaches » positionnent les valeurs maximales et minimales obtenues.



6X : technique fluorimétrique
 QU : Quantase (Bio-Rad)

figure 5: Récapitulatif des résultats individuels obtenus pour la phénylalanine lors de l'opération 06DNN1.



Conclusion

Les résultats des laboratoires contrôlés sont globalement satisfaisants avec :

1. Une participation satisfaisante lors de l'opération du contrôle national de qualité (27 envois, 2 incidents de livraison, 25 réponses).
2. Le suivi d'une démarche identique pour tous les laboratoires et une interprétation cohérente des résultats.
3. L'utilisation de réactifs présentant une précision correcte compte tenu des conditions de dosage, pour mémoire les dosages sont effectués avec seulement quelques μl de sang total.

Il faut cependant noter :

La persistance « problématique » d'une différence inter-technique pour la mesure de la 17-hydroxyprogestérone. Pour ce dosage, un seuil unique est actuellement recommandé par l'AFDPHE quel que soit le réactif utilisé. L'existence d'une différence inter-technique avérée devrait amener les industriels concernés à vérifier la calibration de leur trousse vis à vis du matériel de référence nouvellement préparé par l'International Society of Neonatal Screening (ISNS). Il faut toutefois noter que cette différence intertechnique semble s'atténuer légèrement en regard des résultats de 2005.

A contrario, on peut constater l'absence d'une différence inter-technique pour la mesure de la phénylalanine. Il est à noter que dans ce cas, les mêmes calibrants sont employés quelle que soit la méthode de dosage utilisée.