

Annales du contrôle national de qualité des analyses de biologie médicale

Dépistage néonatal

12DNN1 et 12DNN2

juin et décembre 2012

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

Août 2013

Michèle NOEL (ANSM¹)

Jean-Louis DHONDT (CH St Philibert, Lomme) – Jean-Marc PERINI (CHRU, Lille)

¹ : L'ANSM se substitue à l'Afssaps depuis le 1^{er} mai 2012.

	12DNN1	12DNN2
Expédition	14/05/2012	01/10/2012
Clôture	11/06/2012	29/10/2012
Edition des compte-rendus individuels	14/08/2012	24/12/2012
Paramètres contrôlés : Echantillons	TSH : T121 17OH-progestérone : H121 Phénylalanine : P121 Trypsine IR : M121	TSH : T122 17OH-progestérone : H122 Phénylalanine : P122 Trypsine IR : M122
Nombre de laboratoires concernés*	26	26
Nombre de laboratoires participants**	26	26

* Laboratoires ayant déclaré à l'ANSM 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 des opérations de l'année 2012

A l'heure actuelle, 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 mucoviscidose (Cystic Fibrosis, CF). En 2012, deux opérations ont été programmées au cours desquelles les paramètres de quatre dépistages ont été contrôlés : phénylalanine (PCU), TSH (HC), 17 OH-progestérone (HCS) et Trypsine Immuno Réactive (mucoviscidose).

Au total 26 laboratoires étaient concernés. Selon l'activité déclarée (dépistage PCU et/ou dépistage HC et HCS et CF), les laboratoires ont reçu les échantillons pour dosage de la phénylalanine et /ou les échantillons pour dosage de la TSH, de la 17OH-progestérone et de la Trypsine Immuno Réactive (Trypsine IR).

Les résultats observés sont globalement satisfaisants : bonne participation des laboratoires au contrôle national de qualité, utilisation de techniques présentant une précision correcte et interprétation cohérente des résultats.

Méthode statistique et expression des résultats

Le traitement statistique des données comporte plusieurs étapes :

- Calcul de la valeur cible : vu le nombre faible 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 du paramètre statistique estimant la dispersion : un coefficient de variation non paramétrique (CV np) est calculé si l'effectif est supérieur à 3. Après avoir déterminé les quartiles P25 et P75, un écart-type non paramétrique (SD) est calculé selon la formule suivante (méthode de Tukey) : $SD = (P75 - P25) / 1,349$. Puis le CV np (SD / médiane) exprimé en % est calculé.
- Comparaison des résultats par des tests non paramétriques (test de Kruskal et Wallis, test U de Mann et Whitney). Les résultats sont significativement différents si $p < 0,05$.
- Une interprétation des résultats obtenus est demandée, les interprétations suivantes peuvent être données :
 - suite au premier résultat :
 - « résultat normal » si le résultat est inférieur à un « 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 d'action »
 - ou « résultats pathologiques » si le résultat dépasse le « seuil d'action ».
- Réponse consensus : elle est définie, pour un échantillon donné, comme étant la réponse exprimée par au moins 75% des laboratoires.

NB : Selon l'échantillon envoyé et sa concentration en analyte, chaque laboratoire peut être amené à effectuer le dosage plusieurs fois. L'ensemble des résultats rendus par les laboratoires est pris en compte lors des calculs statistiques.

Définition des échantillons

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

Pour la TSH, la 17OH-progestérone, la phénylalanine et la trypsine IR, 2 échantillons ont été envoyés lors des 2 opérations de contrôle.

Chaque échantillon comporte trois taches de sang séché 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

TSH

Les principaux résultats concernant le dosage de la TSH sur sang séché sont donnés dans le tableau I. Trois trousse de dosage ont été utilisées : la trousse ELSA TSH-NN IBA Cis bio [AN] par 7 laboratoires, la trousse Delfia/Autodelfia hTSH néo Perkin Elmer [KC] par 13 laboratoires et la nouvelle trousse GSP hTSH Perkin Elmer [KP] par 2 laboratoires. La commission technique de l'AFDPHE a coordonné l'évaluation de ce nouveau système de dosage et autorisé fin 2011 l'utilisation du GSP – Perkin Elmer pour la mesure de la TSH, de la 17OH-progestérone et de la Trypsine Immuno-Réactive à partir de sang déposé sur buvard. Les résultats des automates Perkin Elmer (AutoDelfia et GSP) ont été regroupés pour les calculs statistiques (pas de différence statistique).

En 2012, les deux échantillons (T121 et T122) envoyés provenaient d'un même lot de production. Pour ces échantillons provenant d'un même lot mais dosés successivement lors des 2 opérations, les résultats ne sont pas statistiquement différents, montrant ainsi la bonne stabilité des résultats obtenus

au cours de l'année 2012 (Figure 1). On note toutefois que les résultats obtenus avec la trousse Cis bio [AN] tendent à augmenter, ainsi la cible passe de 14,9 mUI/L pour T121 à 16,5 mUI/L pour T122.

La précision de chaque trousse est convenable pour la zone de concentration basse (proche de 10 mUI/L) avec des CV np compris entre 6 et 17%.

Les résultats diffèrent significativement selon le fabricant. La trousse Cis bio [AN] donne des résultats plus élevés que les trousse Perkin Elmer [KC] et [KP]. L'écart entre les 2 fabricants est compris entre 50 à 70%. Pour une valeur cible proche de 10 mUI/L, l'écart observé en 2009 était similaire (T921 - 2009 écart de 58%). Cependant, les résultats obtenus précédemment montraient que l'écart des résultats obtenus par les 2 fabricants s'accroissait notamment au niveau de la zone des seuils de décision. Suite à ce constat, l'ANSM a questionné les 2 fabricants sur la traçabilité de leurs trousse en regard du 3^e Standard préparé par l'International Society of Neonatal Screening (ISNS).

Rappelons que la société Cis bio International avait déjà réalisé une re-calibration de sa trousse sur le Standard ISNS, suite à la demande de l'Afssaps en 2007. Grâce à cette re-calibration, l'écart inter-technique s'était amélioré.

Pour les échantillons T121 et T122, l'interprétation des résultats par les biologistes (tableau II) est satisfaisante avec 22 réponses sur 22 en accord avec le consensus.

tableau I : Résultats obtenus pour la TSH.

Opération	Echantillon	Code	Fournisseur	n	Médiane*	CV np (%)
12DNN1	T121	-	Tous réactifs	26	11,1	26,0
		AN	IBA Cis bio	9	14,9	14,2
		KC/KP	Perkin Elmer	17	10,0	16,7
12DNN2	T122	-	Tous réactifs	22	10,1	12,0
		AN	IBA Cis bio	6	16,5	8,6
		KC/KP	Perkin Elmer	16	9,8	5,7

* exprimé en mUI/L de sang total

tableau II : Récapitulatif des interprétations données lors des opérations 12DNN1 et 12DNN2 pour le dépistage de l'HC.

Opération	Echantillon	Médiane* (mUI/L)	Interprétation consensus	Nb de laboratoires en accord avec le consensus
12DNN1	T121	11,1	Résultat normal	22 / 22
12DNN2	T122	10,1	Résultat normal	22 / 22

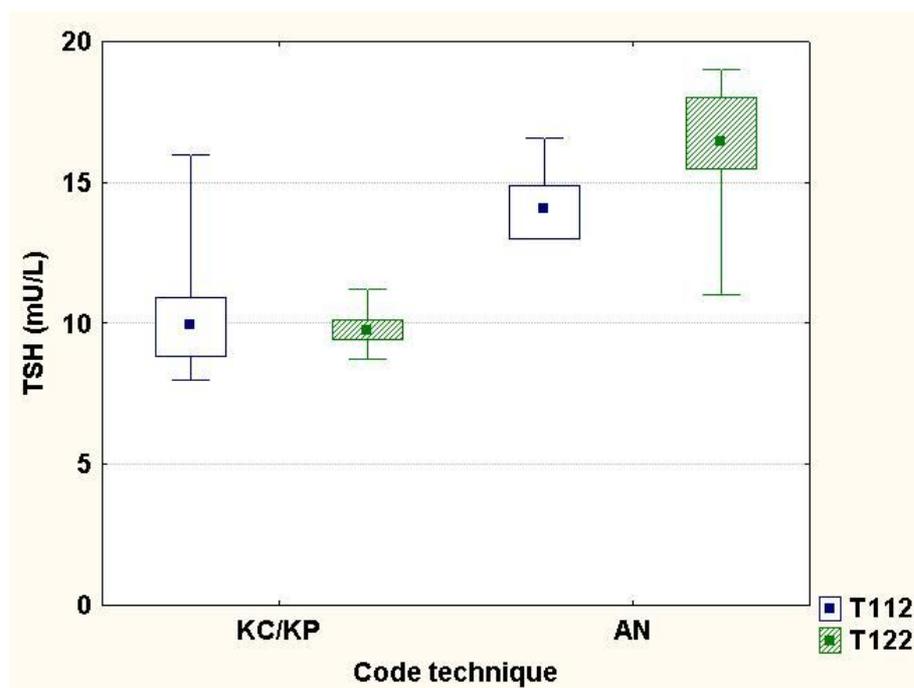
*médiane tous réactifs

NB: les seuils recommandés par l'Association Française pour le Dépistage et la Prévention des Handicaps de l'Enfant (AFDPHE) sont

- avec la technique AN : 20 mUI/L pour le seuil de « retest » pour lequel le résultat est contrôlé en duplicate et 25 mUI/L pour le seuil d'action (demande d'un second prélèvement ou convocation du nouveau-né)
- avec la technique KC : 15 mUI/L pour le seuil de « retest » et 20 mUI/L pour le seuil d'action.
- avec la technique KP : 12 mUI/L pour le seuil de « retest » et 15 mUI/L pour le seuil d'action.

La conclusion « résultat pathologique » doit être rendue lorsqu'après contrôle du premier résultat en duplicate, le résultat est supérieur au seuil d'action.

figure 1 : Diagramme « boîte et moustaches » pour la TSH lors des opérations 12DNN1 et 12 DNN2 en fonction du réactif utilisé. Chaque rectangle représente l'espace interquartile (percentile 75 – percentile 25) avec la position de la médiane (point), les traits inférieurs et supérieurs positionnent les valeurs maximales et minimales obtenues.



17OH-progesterone

Les principaux résultats concernant le dosage de la 17 OH-progesterone dans le cadre du dépistage néonatal sont donnés dans le tableau III et illustrés sur les figures 2 et 3.

Comme pour le dosage de la TSH, trois trousse de dosage ont été utilisées par les laboratoires. Huit puis sept laboratoires ont utilisé la trousse 17-OHP-NN Cis bio International et douze puis treize laboratoires, la trousse Delfia / AutoDelfia 17 α OHP néo Perkin Elmer. La nouvelle trousse de dosage de la 17 α OHP pour plateforme GSP Perkin Elmer [KP] a été utilisée par 2 laboratoires. Les résultats des automates Perkin Elmer (AutoDelfia et GSP) ont été regroupés pour les calculs statistiques (pas de différence statistique).

Pour le niveau haut (H121), la précision de chaque trousse est correcte avec des CV np compris entre 12 et 15%. La précision est moindre pour le niveau bas (H122) mais demeure convenable compte-tenu du faible volume de sang total (2 μ l) utilisé pour réaliser ce dosage.

Pour les deux échantillons, la médiane des résultats obtenus avec trousse Cis bio est significativement plus élevée que la médiane des résultats obtenus avec la trousse Perkin Elmer (Test U de Mann-Whitney, $p < 0,05$). Pour le niveau bas, l'écart inter-technique tend à s'accroître par rapport aux résultats obtenus après la modification en avril 2009 de la standardisation de la trousse Perkin Elmer (H921 vs H122). Pour le niveau haut, l'écart inter-technique reste stable (H102 vs H121).

Pour l'échantillon H122, l'interprétation finale des résultats par les biologistes (tableau IV) est satisfaisante avec 22 réponses sur 22 en accord avec le consensus.

Pour l'échantillon H121, aucun consensus n'a pu être établi. La conclusion dépend clairement du réactif utilisé : les utilisateurs Perkin Elmer ont tous rendu « résultat pathologique », les utilisateurs de la trousse Cis bio ont rendu « résultat pathologique » dans 2 cas et « résultat normal » dans 6 cas. Dans tous les cas, la conclusion demeure logique au regard du résultat obtenu et des seuils utilisés par le laboratoire.

tableau III : Résultats obtenus pour la 17OH-progesterone.

Opération	Echantillon	Code	Fournisseur	n	Médiane*	CV np (%)
12DNN1	H121	-	Tous réactifs	58	38,2	29,0
		AN	IBA Cis bio	18	52,7	14,6
		KC/KP	Perkin Elmer	40	34,8	11,8
12DNN2	H122	-	Tous réactifs	22	14,6	31,9
		AN	IBA Cis bio	7	19,0	8,4
		KC/KP	Perkin Elmer	15	13,4	22,7

*exprimé en nmol/L de sang total

tableau IV : Récapitulatif des interprétations données lors des opérations 12DNN1 et 12DNN2 pour le dépistage de l'HCS.

Opération	Echantillon	Médiane* (nmol/L)	Interprétation consensus	Nb de laboratoires en accord avec le consensus
12DNN1	H121	38,2	Pas d'interprétation consensus	-
12DNN2	H122	14,6	Résultat normal	22 / 22

*médiane tous réactifs

NB: les seuils recommandés par l'AFDPHE sont

- avec la technique AN : 50 nmol/L pour le seuil de « retest » (contrôle du résultat en duplicate) et 60 nmol/L pour le seuil d'action (demande d'un second prélèvement ou convocation du nouveau-né).
- avec les trousse Perkin Elmer [KC] et [KP] : enfant prématuré : 35 nmol/L pour le seuil de « retest » (contrôle du résultat en duplicate) et 40 nmol/L pour le seuil d'action
- avec la technique KC enfant à terme : 20 nmol/L pour le seuil de « retest » (contrôle du résultat en duplicate) et 25 nmol/L pour le seuil d'action

La conclusion « résultat pathologique » doit être rendue lorsque le résultat est supérieur au seuil d'action après contrôle en duplicate.

figure 2 : Diagramme « boîte et moustaches » pour la 17 OH-progesterone lors de l'opération 12DNN1 en fonction du réactif utilisé.

Chaque rectangle représente l'espace interquartile (percentile 75 – percentile 25) avec la position de la médiane (point), les traits inférieurs et supérieurs positionnent le 5^e et le 95^e percentile.

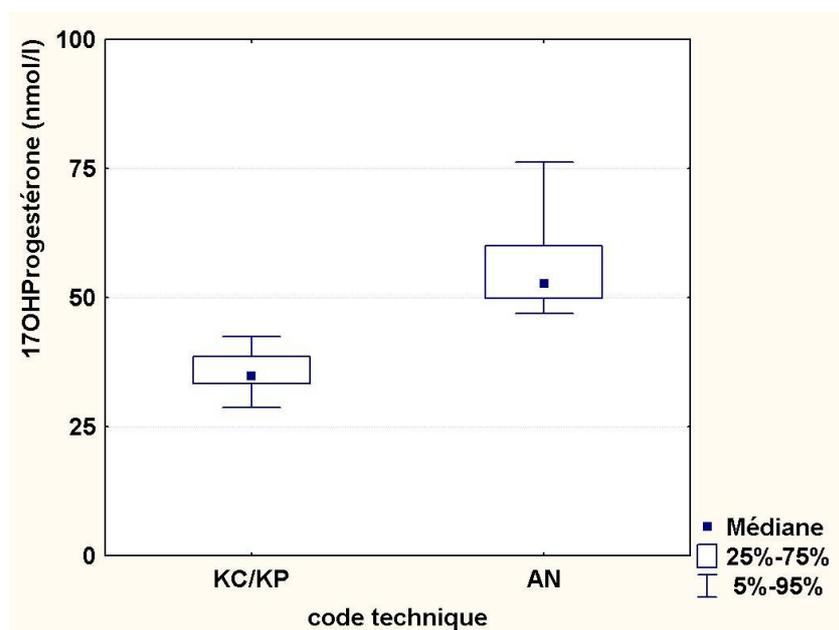
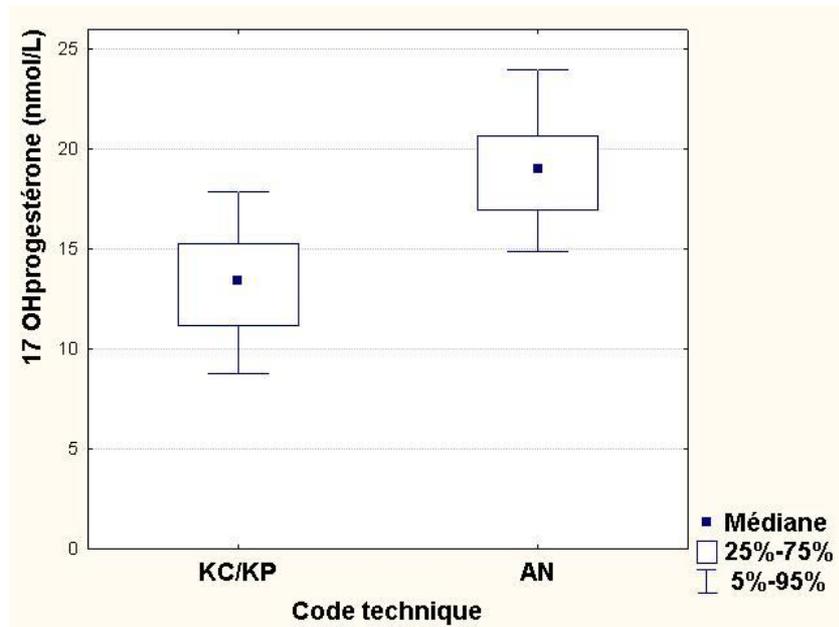


figure 3 : Diagramme « boîte et moustaches » pour la 17 OH-progesterone lors de l'opération 12DNN2 en fonction du réactif utilisé. Chaque rectangle représente l'espace interquartile (percentile 75 – percentile 25) avec la position de la médiane (point), les traits inférieurs et supérieurs positionnent le 5^e et le 95^e percentile.



Phénylalanine

Les principaux résultats concernant le dosage de la phénylalanine sur sang séché sont donnés dans le tableau V et sur les figures 4 et 5.

Deux techniques de dosage ont été utilisées par les laboratoires. La grande majorité des laboratoires (17) dosent la phénylalanine grâce à une technique fluorimétrique [6X]. La trousse Quantase Neonatal Bio Rad [QU], qui est une méthode enzymatique colorimétrique, n'est utilisée systématiquement que par 2 laboratoires. Deux autres laboratoires l'utilisent seulement pour contrôler les résultats du premier dosage.

Les résultats sont comparables quelle que soit la technique utilisée. Les deux techniques utilisées sont étalonnées avec les mêmes calibrants (Bio-Rad). Dans le cadre de la commission technique AFDPHE, un contrôle est effectué avant la distribution des nouveaux lots de calibrant. La vérification porte sur le point de gamme correspondant à la zone décisionnelle, les valeurs affichées doivent être en accord avec la valeur cible donnée par Bio-Rad.

Les échantillons P121 et P122 ont été dosés par spectrométrie de masse. Les résultats sont les suivants : P121 – 86,5 µmol/L et P122 -314,4 µmol/L. La surestimation des résultats par fluorimétrie est plus importante pour le niveau bas (+39%) que pour le niveau haut (+17%). Cette observation s'explique par l'émission de fluorescence non spécifique due aux interférences relativement plus importante dans la zone des faibles concentrations en phénylalanine. C'est pourquoi les points bas de la gamme, trop proches de la limite de quantification, sont les plus sujets à des fluctuations. Celles-ci impactent surtout la zone physiologique des valeurs de la phénylalaninémie.

En 2012, les échantillons envoyés sont positionnés au-dessus et en dessous du seuil décisionnel.

Dans la zone située au-dessus du seuil (P122), la précision de la technique fluorimétrique est satisfaisante avec des CV np proches de 12%, sans changement par rapport aux résultats obtenus en 2010 (P102) pour des échantillons de concentrations équivalentes.

Dans la zone située en dessous du seuil (P121), la dispersion des résultats est beaucoup plus importante qu'habituellement. Les numéros de lot du calibrant utilisé lors du dosage étaient demandés : 17 laboratoires sur 22 ont répondu et 3 lots différents ont été utilisés (lot 1549, lot 1627 et lot 1693) dont 2 majoritairement (lot 1627 et lot 1693). Pour ces 2 lots, les résultats diffèrent statistiquement selon le lot de calibrant utilisé (figure 6) et l'écart entre les résultats médian obtenus avec chacun des lots est important (39%). De ce fait, les résultats individuels n'ont pas été évalués.

L'interprétation finale des résultats par les biologistes (tableau VI) est satisfaisante, toutes les réponses sont en accord avec le consensus.

tableau V : Résultats obtenus pour la phénylalanine.

Opération	Echantillon	Code	Fournisseur	n	Médiane*	CV np (%)
12DNN1	P121	-	Tous réactifs	30	120,5	13,8
		QU	Bio-Rad	4	117,9	17,3
		6X	manuelle	26	120,5	18,1
12DNN2	P122	-	Tous réactifs	65	375,1	9,3
		QU	Bio-Rad	10	370,6	4,6
		6X	manuelle	55	380,2	12,4

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

tableau VI : Récapitulatif des interprétations données lors des opérations 12DNN1 et 12DNN2 pour le dépistage de la PCU.

Opération	Echantillon	Médiane* ($\mu\text{mol/L}$)	Interprétation consensus	Nbre de laboratoires en accord avec le consensus
12DNN1	P121	120,5	Résultat normal	22 / 22
12DNN2	P122	375,1	Résultat pathologique	22 / 22

* médiane tous réactifs

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

figure 4 : Diagramme « boîte et moustaches » pour la phénylalanine lors de l'opération 12DNN1 en fonction du réactif utilisé.
 Chaque rectangle représente l'espace interquartile (percentile 75 – percentile 25) avec la position de la médiane (point), les traits inférieurs et supérieurs positionnent le 5^e et le 95^e percentile.

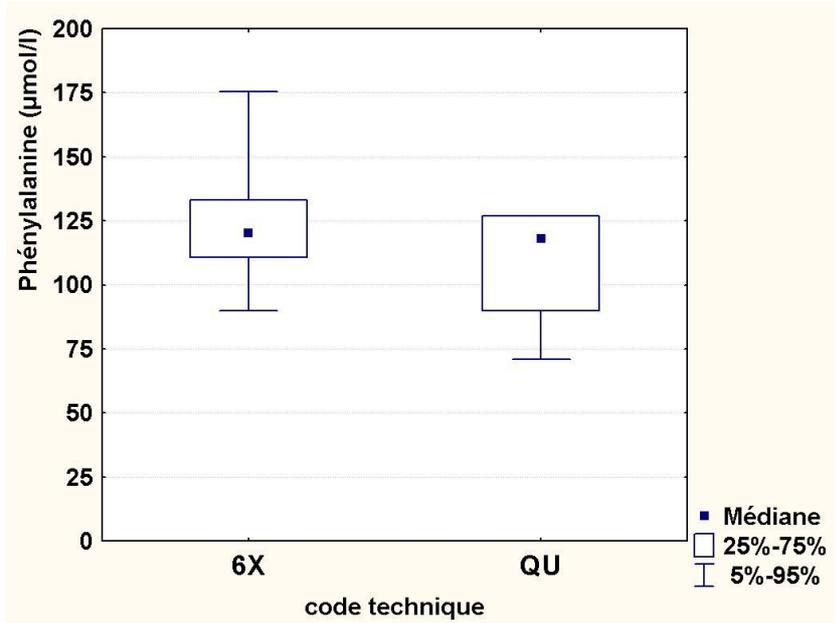


figure 5 : Diagramme « boîte et moustaches » pour la phénylalanine lors de l'opération 12DNN2 en fonction du réactif utilisé.
 Chaque rectangle représente l'espace interquartile (percentile 75 – percentile 25) avec la position de la médiane (point), les traits inférieurs et supérieurs positionnent le 5^e et le 95^e percentile.

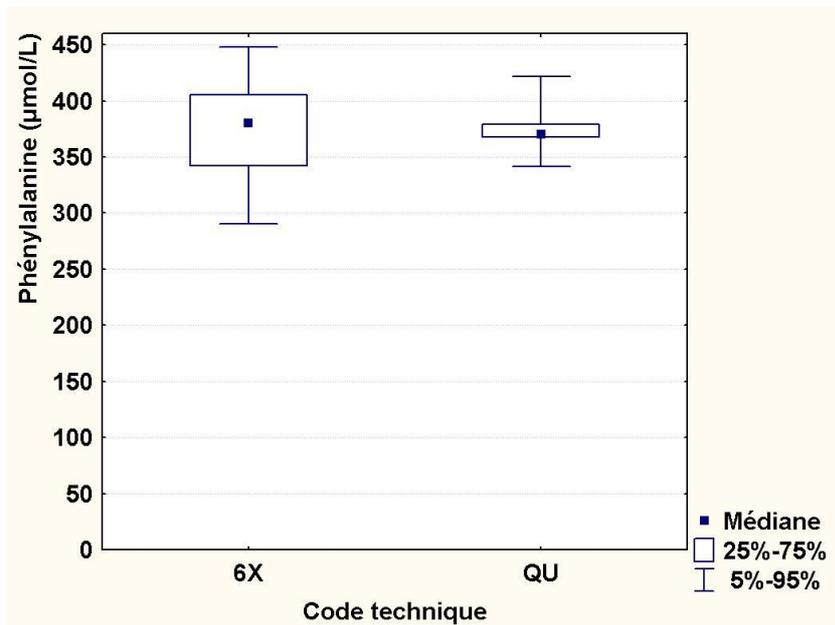
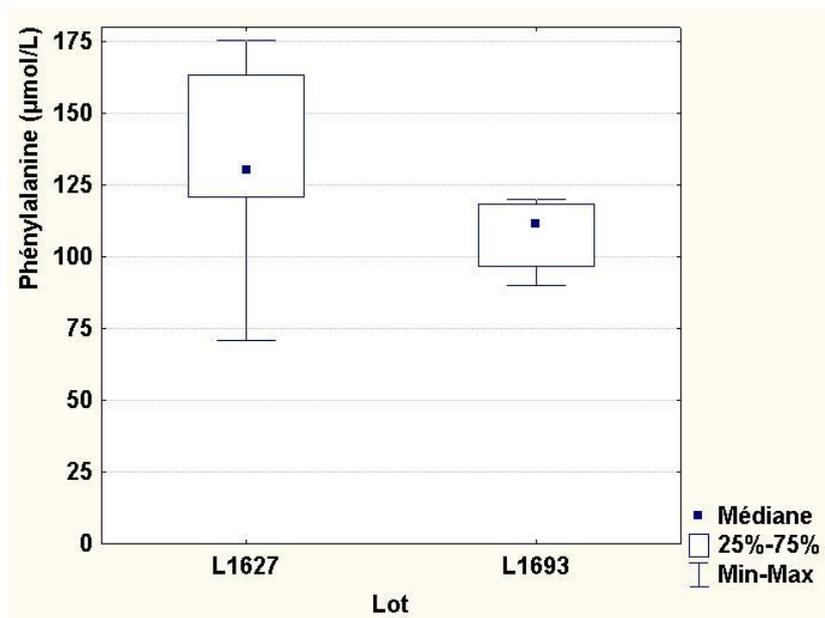


figure 6 : Diagramme « boîte et moustaches » pour la phénylalanine lors de l'opération 12DNN1 en fonction du lot de calibrant utilisé. Chaque rectangle représente l'espace interquartile (percentile 75 – percentile 25) avec la position de la médiane (point), les traits inférieurs et supérieurs positionnent le 5^e et le 95^e percentile.



Trypsine IR (TIR)

Les principaux résultats concernant le dosage de la TIR néonatale sont donnés dans le tableau VII et illustrés sur les figures 7 et 8.

Trois trousse de dosage ont été utilisées par les laboratoires. Huit puis sept laboratoires ont utilisé la trousse RIA-gnost Trypsin neonatal Cis bio et treize puis quinze laboratoires, la trousse Delfia/Autodelfia IRT Perkin Elmer. Un seul laboratoire a utilisé lors de l'opération 12DNN1 la trousse GSP Perkin Elmer. Les résultats des automates Perkin Elmer (AutoDelfia et GSP) ont été regroupés pour les calculs statistiques.

En 2012, les 2 échantillons envoyés sont situés en dessous et au-dessus des seuils de retest et d'action. Dans la zone au-dessus du seuil d'action, la précision intra-technique inter-laboratoire des 2 trousse (CV np) est comprise, selon le niveau de l'échantillon, entre 7 et 12%. Dans la zone en dessous du seuil d'action, la dispersion des résultats obtenus avec la trousse RIA-gnost Trypsin neonatal Cis bio est inhabituelle et importante.

Quel que soit le niveau des échantillons, les résultats diffèrent significativement selon la technique utilisée (test U de Mann et Whitney, $p < 0,001$). La trousse Cis bio donne toujours les résultats les plus élevés.

Lors de l'opération 12DNN1, l'écart entre la médiane des résultats obtenus avec la trousse Cis bio et la médiane des résultats obtenus avec la trousse Perkin Elmer est de 38%. Cet écart est de 48% lors de l'opération 12DNN2. Pour une valeur cible proche de 70 µg/l, l'écart observé entre les deux techniques a tendance à s'accroître depuis 2008.

Une interprétation des résultats obtenus était demandée. L'interprétation finale des résultats par les biologistes (tableau VIII) est satisfaisante lorsqu'une interprétation consensus était possible (M121).

Pour l'échantillon M122, la conclusion dépend clairement du réactif utilisé : les utilisateurs de la trousse Cis bio ont tous rendu « résultat pathologique » et les utilisateurs Perkin Elmer « résultat normal » dans 8 cas et « résultat pathologique » dans 6 cas. Dans tous les cas, la conclusion demeure logique au regard du résultat obtenu et des seuils utilisés par le laboratoire.

tableau VII : Résultats obtenus pour la trypsine IR.

Opération	Echantillon	Code	Fournisseur	n	Médiane*	CV np (%)
12DNN1	M121	-	Tous réactifs	26	35,8	23,4
		AN	IBA Cis bio	12	42,4	27,7
		KC/KP	Perkin Elmer	14	30,9	13,3
12DNN2	M122	-	Tous réactifs	62	68,3	31,4
		AN	IBA Cis bio	21	93,9	7,8
		KC	Perkin Elmer	41	63,0	11,4

* exprimé en µg/L de sang total

tableau VIII : Récapitulatif des interprétations données lors des opérations 12DNN1 et 12DNN2 pour la TIR.

Opération	Echantillon	Médiane* (µg/L)	Interprétation consensus	Nb de laboratoires en accord avec le consensus
12DNN1	M121	35,8	Résultat normal	22 / 22
12DNN2	M122	68,3	Pas d'interprétation consensus	-

* médiane tous réactifs

NB: les seuils recommandés par l'Association Française pour le Dépistage et la Prévention des Handicaps de l'Enfant (AFDPHE) sont 60 µg/l pour le seuil de « retest » (contrôle du résultat en duplicate) et 65 µg/l pour le seuil d'action (transmission du prélèvement pour recherche des mutations génétiques). La conclusion « résultat pathologique » doit être rendue lorsque le résultat est supérieur au seuil d'action après contrôle en duplicate.

figure 7 : Diagramme « boîte et moustaches » pour la trypsine IR lors de l'opération 12DNN1 en fonction du réactif utilisé. Chaque rectangle représente l'espace interquartile (percentile 75 – percentile 25) avec la position de la médiane (point), les traits inférieurs et supérieurs positionnent le 5^e et le 95^e percentile.

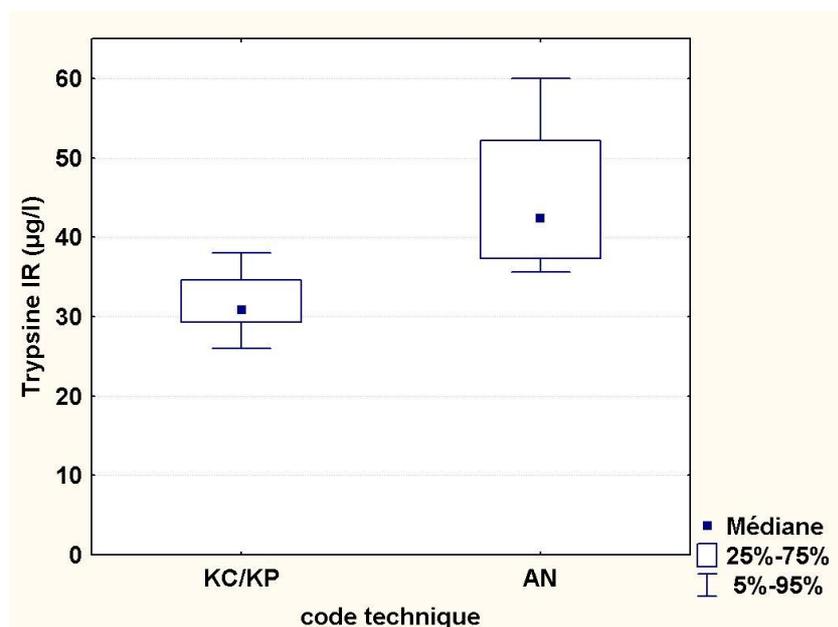
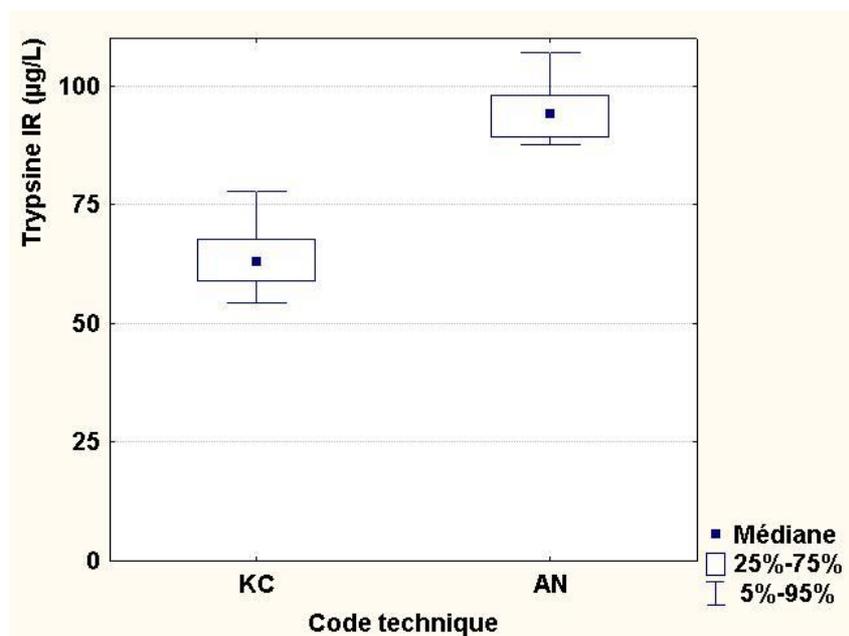


figure 8 : Diagramme « boîte et moustaches » pour la trypsine IR lors de l'opération 12DNN2 en fonction du réactif utilisé. Chaque rectangle représente l'espace interquartile (percentile 75 – percentile 25) avec la position de la médiane (point), les traits inférieurs et supérieurs positionnent le 5^e et le 95^e percentiles.



Evaluation des résultats individuels par des limites acceptables

Les résultats obtenus par chaque laboratoire pour le dosage de TSH, 17OH-progesterone, phénylalanine et trypsine IR ont été évalués au regard des limites acceptables définies dans le tableau IX. Rappelons que seul le résultat du dosage initial est évalué.

Les résultats sont dans l'ensemble satisfaisants (tableau X).

tableau IX – Limites acceptables appliquées en 2012.

	<i>Echantillons</i>							
	T121	T122	H121	H122	P121	P122	M121	M122
TSH	25%	25%						
17 OH-progesterone			20%	30%				
Phénylalanine					Non évalué	20%		
Trypsine IR							20%	20%

tableau X – Pourcentage de « bons résultats » évalués en A ou en B en 2012.

	12DNN1	12DNN2
TSH	90,9% (20 / 22 laboratoires)	95,5% (21 / 22 laboratoires)
17 OH-progesterone	95,5% (21 / 22 laboratoires)	68,2% (15 / 22 laboratoires)
Phénylalanine	Non évalué	90,9% (20 / 22 laboratoires)
Trypsine IR	90,9% (20 / 22 laboratoires)	95,5% (21 / 22 laboratoires)

Commentaires sur les résultats

1 - TSH

A la demande de l'Afssaps, le réactif de la société Cis bio International a été re-standardisé en juin 2007 par rapport au Standard International préparé par l'ISNS. Après l'action correctrice menée par la société Cis bio International, l'écart entre les trousseaux Cis bio et Perkin Elmer s'était resserré.

Depuis 2009, les résultats du Contrôle National de Qualité objectivaient un accroissement de l'écart inter-technique.

De même, l'étude par la Commission technique de l'AFDPHE du pourcentage de prélèvements présentant des résultats supérieurs au « seuil d'action » montre que pour les laboratoires utilisant la trousse Cis bio, le pourcentage de prélèvements au-dessus du seuil d'action a diminué dans un premier temps puis réaugmente depuis 2009. Il passe ainsi de 0,53% en 2006 à 0,21% en 2008, à 0,37% en 2010 puis à 0,34% en 2012. Pour les laboratoires utilisant la trousse Perkin Elmer, le pourcentage d'échantillons au-dessus du seuil d'action reste stable avec 0,09 % en 2012 (tableau XI).

Suite à ce constat, l'ANSM a questionné les 2 fabricants sur la traçabilité de leurs trousseaux en regard du 3^e Standard ISNS.

En réponse à cette demande, la société Perkin Elmer a établi que la trousse de TSH AutoDelfia est parfaitement raccordée. Le raccordement au 3^e standard ISNS est maintenant indiqué dans les notices d'utilisation des trousseaux. La société Cis bio qui surdose d'environ 25%, est en cours de validation de la re-calibration de son dosage de TSH. La validation devrait être effective en septembre 2013.

Enfin, on note que 4 sur 13 puis 5 sur 14 des utilisateurs de la technique AutoDelfia Perkin Elmer utilisent un seuil de décision abaissé.

Afin de maintenir une attitude d'interprétation consensuelle, l'AFDPHE prévoit via sa commission technique une ré-investigation des seuils en confrontant les résultats du dépistage et les données cliniques des enfants adressés pour bilan diagnostique.

tableau XI – Evolution des pourcentages de tests supérieurs au seuil d'action depuis 2006 (données recueillies par la commission technique AFDPHE).

Réactif	Année	% tests supérieurs au seuil d'action
IBA Cis bio	2006	0,53%
	2007	0,34%
	2008	0,21%
	2009	0,25%
	2010	0,37%
	2011	0,36%
	2012	0,34%
Perkin Elmer (Delfia / Auto Delfia)	2006	0,07%
	2007	0,07%
	2008	0,07%
	2009	0,11%
	2010	0,10%
	2011	0,10%
	2012	0,09%

NB: les seuils d'action recommandés par l'AFDPHE sont les suivants :

- Cis bio : 25 mUI/L
- Perkin Elmer : 20 mUI/L.

2 - 17OH-progestérone

L'ANSM a également interrogé la société Perkin Elmer sur la traçabilité de sa trousse en regard du 3^e standard ISNS de 17 OH-Progestérone. La trousse AutoDelfia Perkin sous estime le standard ISNS. Les résultats obtenus au moyen de cette trousse doivent être multipliés par 1,33. Ceci explique

en partie l'écart inter-technique observé par le contrôle national de qualité. Toutefois, pour les utilisateurs Perkin Elmer, de nouvelles valeurs seuils ont été mises en place suite à la distribution en avril 2009 d'une trousse de dosage de la 17 OH-progestérone modifiée utilisant des anticorps différents. Ces valeurs seuils ont été déterminées à l'aide des percentiles de la distribution de la population normale. Les seuils sont donc « adaptés ». Il est important de continuer à suivre l'évolution de l'écart inter-technique. En cas de dérive importante, re-calibration des trousse et nouvelle détermination des seuils devraient être envisagées.

3 - Phénylalanine

Pour la grande majorité des laboratoires le dosage de phénylalanine est réalisée par une technique fluorimétrique manuelle. Bien que manuelle, cette technique de dosage assure globalement une bonne qualité des résultats rendus et des contrôles de qualité. Ainsi pour les opérations réalisées depuis 2005, le CV médian de la technique fluorimétrique (10,45%) est comparable à celui obtenu par la technique Bio-Rad Quantase (10,40%).

Pour la première fois, des contrôles de qualité fournis par l'ANSM ont été dosés par MS/MS, technique qui à terme devrait se généraliser dans le cadre de l'extension du programme de dépistage néonatal. La sous-estimation des résultats obtenue par cette méthode confirme les conclusions de l'étude pilote menée conjointement à Caen et Lyon (publication en cours). Un réajustement des seuils décisionnels sera à prévoir.

Cette technique devrait également réduire la dispersion des résultats observée notamment pour les valeurs basses. Le contrôle de qualité P121, qui a exploré cette zone de concentration, n'a pas pu être utilisé pour évaluer la pertinence des résultats de chaque laboratoire. En effet des lots de calibrant différents sont utilisés sur la même période. Lors de l'opération 12DNN1 2 lots de calibrant utilisés par les laboratoires pour répondre à ce contrôle de qualité ont plus particulièrement favorisé la dispersion des résultats : le lot 1627 qui « tire » les valeurs des contrôles vers le haut et le lot 1693 qui « tire » les valeurs des contrôles vers le bas. Ce phénomène a également impacté la distribution des valeurs de la phénylalaninémie chez l'ensemble des nouveau-nés testés en 2012. Le nombre de retests observés pour des dosages « réglés » à l'aide de ces 2 mêmes lots de calibrant est de 0,08 % contre 0,06 % pour les lots 1627 et 1693 respectivement. Une méthode de dosage moins sensible aux interférences devient souhaitable.

4- Trypsine IR

La première opération de contrôle réalisée par l'Afssaps a eu lieu en 2007. Comme chaque année depuis 2007 on observe en 2012 un écart de résultat entre les 2 techniques utilisées : la trypsine utilisée pour la fabrication des échantillons est, de toute évidence, reconnue différemment par les anticorps des trousse Cis bio et Perkin Elmer. Toutefois, comme expliqué dans les annales 2007, les seuls échantillons disponibles ne sont pas parfaitement commutables, car seuls des échantillons utilisant du sang d'enfants atteints de mucoviscidose seraient parfaitement représentatifs des formes moléculaires de Trypsine IR présentes à cet âge et pour cette pathologie. Dans le cas présent, les résultats du Contrôle National de Qualité ne peuvent mettre en évidence que d'éventuelles distorsions de réponse par rapport aux résultats obtenus par le groupe technique.

L'étude des paramètres caractéristiques de la distribution des valeurs observées en routine et en particulier le pourcentage d'analyses génétiques demandées est une autre façon de contrôler la stabilité analytique des systèmes de dosage utilisés. Ces paramètres, surveillés par la Commission Technique de l'AFDPHE, n'ont montré aucun décalage significatif depuis 2007 : le pourcentage d'analyses génétiques demandées, pour les laboratoires utilisant l'une ou l'autre trousse, est similaire et proche de 0,5%.

Conclusion

Les résultats obtenus lors des opérations du Contrôle National de Qualité « dépistage néonatal 2012 » sont globalement satisfaisants. Les écarts inter-techniques étaient pour la trypsine IR et pour la 17 OH-progestérone du même ordre que ceux habituellement observés sans nouveau biais.

Pour la phénylalanine, la dispersion inhabituelle des résultats notée lors de la première opération n'était pas retrouvée lors de la seconde opération. De plus, on notait l'absence de différence inter-technique.

Pour la TSH, les résultats confirment un accroissement de l'écart inter-technique et la persistance de seuils de décision multiples pour les utilisateurs de la technique Perkin Elmer, nécessitant de reconsidérer les seuils d'action. Suite à la demande de l'ANSM, la traçabilité des 2 trousseaux en regard du 3^e standard ISNS a été vérifiée par les fabricants et la société Cis bio est en train de mettre en place des mesures correctives.

Enfin, la participation des laboratoires impliqués dans le dépistage néonatal a été satisfaisante (100% de participation) et l'interprétation des résultats a été cohérente.