

# Annales du contrôle national de qualité des analyses de biologie médicale

<b>Dépistage néonatal</b>	<b>17DNN1</b>	<b>décembre 2017</b>
---------------------------	---------------	----------------------

**Dépistage néonatal :**  
hypothyroïdie (TSH)  
hyperplasie des surrénales (17 OH-progestérone)  
mucoviscidose (trypsine IR)  
drépanocytose (présence HbS)

septembre 2018

Michèle NOEL (ANSM)  
Jean-Marc PERINI (CHRU, Lille)

	<b>17DNN1</b>
Expédition	18/12/2017
Clôture	22/01/2018
Edition des compte-rendus individuels	10/04/2018
Paramètres contrôlés : Echantillons	TSH : T171 – T172  17OH-progestérone : H171 – H172  Trypsine IR : M171 – M172  Hémoglobine S : D171 – D172
Nombre de laboratoires concernés*	23
Nombre de laboratoires participants**	21

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

\*\* Laboratoires ayant saisi leurs résultats sur internet avant la date de clôture de l'opération

## Résumé de l'opération 2017

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 2017, une opération a été programmée au cours de laquelle les paramètres de quatre dépistages ont été contrôlés : TSH (HC), 17OH-progestérone (HCS), Trypsine Immuno-Réactive (mucoviscidose) et hémoglobine S (drépanocytose).

Au total 23 laboratoires étaient concernés. Selon l'activité déclarée, les laboratoires ont reçu les échantillons pour dosage de la TSH, de la 17OH-progestérone et de la Trypsine Immuno Réactive (Trypsine IR) et/ou les échantillons permettant de mettre en évidence la présence de l'hémoglobine S.

Les résultats observés sont globalement satisfaisants : utilisation de techniques présentant une précision correcte, écarts inter-techniques stables pour la TSH pour la 17OH Progestérone et pour la trypsine IR.

Enfin, l'interprétation des résultats par les laboratoires impliqués dans le dépistage néonatal a été cohérente.

## 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 ou égal à 3.
- Calcul du paramètre statistique estimant la dispersion : un coefficient de variation non paramétrique (CVnp) 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 CVnp (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

Pour la TSH, la 17OH-progesterone et la trypsine IR, les échantillons envoyés sont des taches de sang d'origine humaine déposées sur papier Ahlstrom standard 226, Perkin Elmer puis séchées. Le sang utilisé pour fabriquer les échantillons est ajusté à l'hématocrite d'un sang de nouveau-né.

Deux échantillons ont été envoyés lors de l'opération 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 dosé en simple, et contrôle en double si le premier résultat est supérieur au seuil de « retest ».

Les échantillons « drépanocytose » sont des taches de sang déposées sur papier buvard réalisées avec des prélèvements de sang natifs.

## Résultats des participants

### TSH

Les principaux résultats concernant le dosage de la TSH sur sang séché sont présentés dans le tableau 1 et sur la figure 1.

Trois trousse de dosage ont été utilisées : la trousse ELSA TSH-NN Cisbio Bioassays [AN] par 1 laboratoire, la trousse Autodelfia hTSH néo Perkin Elmer [KC] par 8 laboratoires et la trousse GSP hTSH Perkin Elmer [KP] par 9 laboratoires.

Les résultats des trousse Perkin Elmer (AutoDelfia et GSP) ne diffèrent statistiquement pas, ils ont donc été regroupés pour l'évaluation des résultats individuels.

Suite à la demande de l'ANSM, la société Cisbio dont la trousse surdosait d'environ 25%, a modifié en conséquence la calibration de son dosage de TSH. Le changement de calibration était

effectif en juillet 2015. Depuis cette date, l'écart observé entre les trousse s'est nettement réduit : T172 – 23%. L'utilisation de seuils différents pour les trois trousse permet de compenser l'écart subsistant. Il ne reste plus qu'un seul laboratoire utilisant la trousse Cisbio.

Pour tous les niveaux, la précision intra-technique inter-laboratoire des trousse Perkin est convenable, généralement proche de 10%.

Pour les échantillons T171 et T172 l'interprétation des résultats par les biologistes (tableau II) est satisfaisante avec 17 réponses sur 18 en accord avec le consensus. Dans tous les cas, la conclusion demeure logique au regard du résultat obtenu et des seuils utilisés par les laboratoires.

tableau I : Résultats obtenus pour la TSH.

Opération	Echantillon	Code	Fournisseur	n	Médiane (mUI/L)	CVnp (%)
17DNN1	T171	-	Tous réactifs	17	10,3	13,0
		AN	Cisbio Bioassays	1	17,3	N.C.
		KC	Auto Delfia - Perkin Elmer	7	10,4	4,8
		KP	GSP – Perkin Elmer	9	9,4	16,6
	T172	-	Tous réactifs	51	21,8	7,5
		AN	Cisbio Bioassays	3	27,0	N.C.
		KC	Auto Delfia - Perkin Elmer	21	22,0	4,9
		KP	GSP – Perkin Elmer	27	20,9	11,0

\*NC : Non Calculé

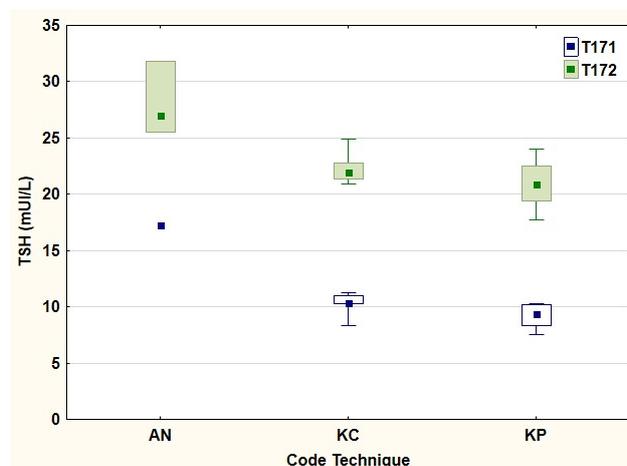
tableau II : Récapitulatif des interprétations données lors de l'opération 17DNN1 pour le dépistage de l'HC.

Opération	Echantillon	Médiane tous réactif (mUI/L)	Interprétation consensus	Nb de laboratoires en accord avec le consensus
17DNN1	T171	10,3	Résultat Normal	17/18
	T172	21,8	Résultat Pathologique	17/18

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 17 mUI/L pour le seuil d'action.

figure 1 : Diagramme « boîte et moustaches » pour la TSH lors de l'opération 17DNN1 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<sup>e</sup> et le 95<sup>e</sup> percentile.



## 17OH-progestérone

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

Comme pour le dosage de la TSH, trois trousse de dosage ont été utilisées par les laboratoires. Un laboratoire a utilisé la trousse 17-OHP-NN Cisbio [AN] et huit laboratoires, la trousse AutoDelfia 17 $\alpha$ OHP néo Perkin Elmer [KC]. La trousse de dosage GSP Perkin Elmer [KP] a été utilisée par neuf laboratoires.

Les résultats des trousse Perkin Elmer (AutoDelfia et GSP) ne diffèrent statistiquement pas, ils ont donc été regroupés pour l'évaluation des résultats individuels.

Comme lors des opérations précédentes, les résultats obtenus avec trousse Cisbio sont plus élevés que les résultats obtenus avec les trousse Perkin Elmer. Il est à noter que cette technique n'est plus utilisée que par un laboratoire.

Pour tous les niveaux, la précision intra-technique inter-laboratoire des trousse Perkin est convenable, inférieure à 10%.

Pour l'échantillon H172, l'interprétation des résultats par les biologistes (tableau IV) est satisfaisante avec 18 réponses sur 18 en accord avec le consensus.

Pour l'échantillon H171, compte-tenu de la cible proche du seuil, la conclusion dépend clairement du réactif utilisé : les utilisateurs GSP - Perkin Elmer ont majoritairement rendu « résultat normal » et les utilisateurs Auto Delfia – Perkin Elmer « résultat pathologique ». Dans tous les cas sauf un, la conclusion demeure logique au regard du résultat obtenu et des seuils utilisés par le laboratoire.

**tableau III** : Résultats obtenus pour la 17OH-progestérone.

Opération	Echantillon	Code	Fournisseur	n	Médiane (nmol/L)	CVnp (%)
17DNN1	H171	-	Tous réactifs	50	23,5	11,2
		AN	Cisbio Bioassays	1	45,0	N.C.
		KC	Auto Delfia - Perkin Elmer	22	25,3	8,9
		KP	GSP – Perkin Elmer	27	22,2	8,0
	H172	-	Tous réactifs	54	39,5	6,8
		AN	Cisbio Bioassays	3	71,8	N.C.
		KC	Auto Delfia - Perkin Elmer	24	38,8	7,7
		KP	GSP – Perkin Elmer	27	39,5	6,2

\*NC : Non Calculé

**tableau IV** : Récapitulatif des interprétations données lors de l'opération 17DNN1 pour le dépistage de l'HCS.

Opération	Echantillon	Médiane tous réactifs (nmol/L)	Interprétation consensus	Nb de laboratoires en accord avec le consensus
17DNN1	H171	23,5	Pas de consensus	-
	H172	39,5	Résultat pathologique	18 / 18

NB: les seuils recommandés par l'AFDPHE sont

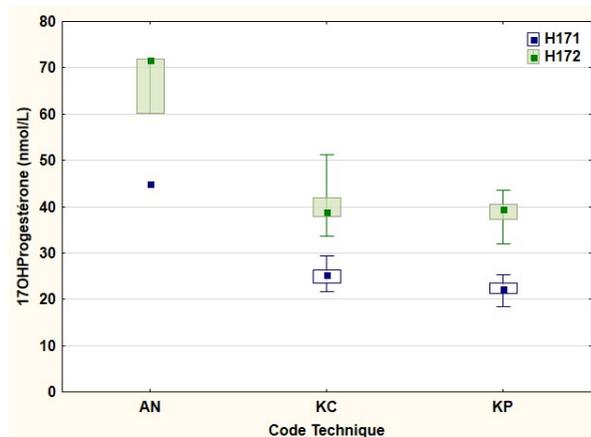
- avec la technique AN : 50 nmol/L pour le seuil de « retest » (contrôle du résultat en duplicate) et 60 nmol/L pour le seuil d'action (demande d'un second prélèvement ou convocation du nouveau-né).

- avec les trousse Perkin Elmer [KC] et [KP] :

enfant prématuré : 35 nmol/L pour le seuil de « retest » et 40 nmol/L pour le seuil d'action ;

enfant à terme : 20 nmol/L pour le seuil de « retest » et 25 nmol/L pour le seuil d'action.

**figure 2** : Diagramme « boîte et moustaches » pour la 17OH-progesterone lors de l'opération 17DNN1 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<sup>e</sup> et le 95<sup>e</sup> percentile.



## Trypsine IR (TIR)

Les principaux résultats concernant le dosage de la TIR néonatale sont donnés dans le tableau V et illustrés sur la figure 3.

Trois trousse de dosage ont été utilisées par les laboratoires. Un laboratoire a utilisé la trousse RIA-gnost Trypsin neonatal Cisbio [AN], dix laboratoires, la trousse AutoDelfia IRT Perkin Elmer [KC] et sept laboratoires la trousse GSP Perkin Elmer [KP].

Les résultats des trousse Perkin Elmer (AutoDelfia et GSP) ne diffèrent statistiquement pas, ils ont donc été regroupés (cible commune) pour l'évaluation des résultats sur les compte-rendus individuels.

En 2017, les échantillons envoyés sont positionnés en dessous des seuils d'action (M171) et au-dessus des seuils d'action (M172). Pour chaque échantillon, la trousse Cisbio donne toujours les résultats les plus élevés. L'écart entre la médiane des résultats obtenus avec la trousse Cisbio et la médiane des résultats obtenus avec les trousse Perkin Elmer est proche de 60%, stable en regard des résultats obtenus en 2016.

La précision intra-technique inter-laboratoire des trousse Perkin Elmer (CVnp) est satisfaisante, inférieur à 10%.

L'interprétation finale des résultats par les biologistes (tableau VI) est satisfaisante, avec 18 et 17 réponses sur 18 en accord avec le consensus (tableau VI). Dans tous les cas la conclusion demeure logique au regard du résultat obtenu et des seuils utilisés par le laboratoire.

**tableau V** : Résultats obtenus pour la trypsin IR.

Opération	Echantillon	Code	Fournisseur	n	Médiane (µg/L)	CVnp (%)
17DNN1	M171	-	Tous réactifs	20	36,0	7,8
		AN	Cisbio Bioassays	3	57,0	N.C.*
		KC	Auto Delfia - Perkin Elmer	10	34,8	4,3
		KP	GSP – Perkin Elmer	7	36,6	6,5
		-	Tous réactifs	54	70,0	8,7
	M172	AN	Cisbio Bioassays	3	108,0	N.C.
		KC	Auto Delfia - Perkin Elmer	30	68,1	6,1
		KP	GSP – Perkin Elmer	21	70,6	7,5

\*NC : Non Calculé

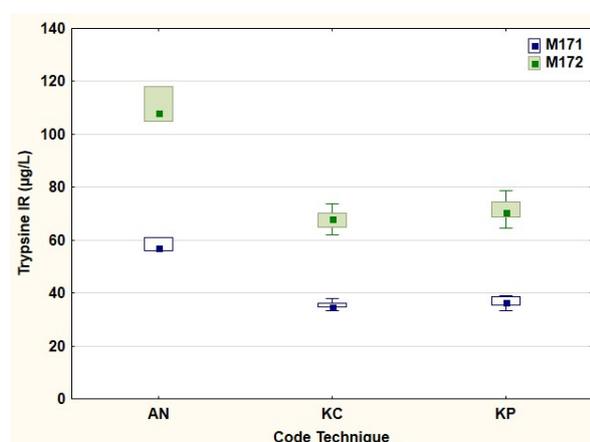
**tableau VI** : Récapitulatif des interprétations données lors de l'opérations 17DNN1 pour la TIR.

Opération	Echantillon	Médiane tous réactifs (µg/L)	Interprétation consensus	Nb de laboratoires en accord avec le consensus
17DNN1	M171	36,0	Résultat normal	18 / 18
	M172	70,0	Résultat pathologique	17 / 18

NB: les seuils recommandés par l'AFDPHE sont

- avec les techniques [AN] et [KC] : 55 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).
- avec la technique [KP] : 50 µg/L pour le seuil de « retest » et 60 µg/L pour le seuil d'action.

**figure 3** : Diagramme « boîte et moustaches » pour la trypsine IR lors de l'opération 17DNN1 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° et le 95° percentile



## Présence d'hémoglobine S (HbS)

La drépanocytose est une maladie génétique se transmettant selon un mode autosomique récessif. Elle est liée à une anomalie de la structure de l'hémoglobine et en particulier à la présence de 2 allèles anormaux du gène bêta globine dont au moins un porte la mutation bêta 6 glu-val (Hb S). Plusieurs associations avec l'hémoglobine S sont responsables d'un syndrome drépanocytaire majeur (SDM).

En métropole, ce dépistage néonatal est réalisé chez les enfants à risque pour la drépanocytose. Il est systématique chez tous les enfants naissant dans un département d'Outre-Mer où la maladie est fréquente. Le diagnostic repose sur la mise en évidence par électrophorèse de la présence de variants anormaux de l'hémoglobine.

Les principaux résultats concernant le dépistage de la drépanocytose sont donnés dans le tableau VII.

Les résultats sont très satisfaisants. Pour les échantillons D171 et D172 les cinq laboratoires ont rendu les mêmes résultats et ils ont conclu de manière identique. Les résultats étaient en accord avec la réponse attendue.

Les techniques utilisées par les cinq laboratoires participants sont données dans le tableau VIII. Trois laboratoires réalisent une CHLP par échange de cations pour l'examen d'orientation puis une isoélectrofocalisation pour la confirmation des résultats. Les deux autres laboratoires réalisent soit un

CHLP par échange de cations puis une électrophorèse capillaire de zone, soit une électrophorèse de zone capillaire puis une CHLP par échange de cations.

**tableau VII** : Résultats obtenus pour le dépistage de la drépanocytose.

Opération	Echantillon	Fractions d'Hb identifiées	Conclusion	Nb de laboratoires en accord avec la conclusion
17DNN1	D171	HbF / HbS	Forte suspicion d'un syndrome drépanocytaire majeur	5/5
	D172	HbF / HbA / HbC	Enfant hétérozygote AC	5/5

**tableau VIII** : Techniques utilisées pour le dépistage de la drépanocytose.

technique	Examen d'orientation	Examen de confirmation
Isoélectrofocalisation sur gel d'agarose	0	3
Electrophorèse capillaire de zone (Cappilarys Sebia)	1	1
CHLP par échange de cations (Variant BioRad)	4	1

## Evaluation des résultats individuels par des limites acceptables

Les résultats obtenus par chaque laboratoire pour le dosage de TSH, 17OH-progestérone et trypsine IR ont été évalués au regard des limites acceptables définies dans le tableau IX. Le résultat du dosage initial et la valeur prise compte lors du 2<sup>e</sup> dosage, si celui-ci est réalisé, ont été évalués.

Les résultats sont satisfaisants (tableau X).

**tableau IX** – Limites acceptables appliquées en 2017.

	Echantillons					
	T171	T172	H171	H172	M171	M172
TSH	25%	25%				
17 OH-progestérone			20%	20%		
Trypsine IR					20%	20%

**tableau XII** – Pourcentage de « résultats conformes » évalués en A ou en B en 2017.

	17DNN1
TSH	94,1% (48 / 51)
17 OH-progestérone	94,0% (63 / 67)
Trypsine IR	100% (51 / 51)

## Commentaires sur les résultats

### 1 - TSH

Lors de l'opération réalisée en 2017, suite au changement de calibration de la trousse Cisbio en juillet 2015, l'écart entre les résultats obtenus d'une part, avec les troupes Perkin Elmer et d'autre part, avec la trousse Cisbio demeure faible (proche de 20%). L'utilisation de seuils différents pour les trois troupes, permet de compenser l'écart subsistant.

## 2 - 17OH-progesterone

L'écart inter-techniques observé lors des opérations du CNQ est en partie expliqué par la sous-estimation du 3<sup>e</sup> standard ISNS de 17 OH-progesterone par les trousse Perkin. Les résultats obtenus au moyen de ces trousse doivent être multipliés par 1,33. Toutefois, pour les utilisateurs Perkin Elmer, de nouvelles valeurs seuils ont été mises en place. Ces valeurs seuils ont été déterminées à l'aide des percentiles de la distribution de la population normale. Les seuils sont donc « adaptés ».

## 3 - Trypsine IR

La première opération de contrôle réalisé par le CNQ a eu lieu en 2007. Comme chaque année depuis 2007 on observe en 2017 un écart de résultat entre les techniques utilisées : la trypsine utilisée pour la fabrication des échantillons est, de toute évidence, reconnue différemment par les anticorps des trousse Cisbio 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.

## 4 – dépistage de la drépanocytose

Les résultats obtenus en 2017 sont très satisfaisants.

## Conclusion

Les résultats obtenus lors de l'opérations du contrôle national de qualité « dépistage néonatal 2017 » sont globalement satisfaisants et l'interprétation des résultats par les laboratoires impliqués dans le dépistage néonatal a été cohérente.