

Annales du contrôle national de qualité des analyses de biologie médicale

Dépistage néonatal**16DNN1 et 16DNN2****mai et octobre 2016**

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

septembre 2017

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

	16DNN1	16DNN2
Expédition	2/05/2016	10/10/2016
Clôture	30/05/2016	7/11/2016
Edition des compte-rendus individuels	3/08/2016	19/12/2016
Paramètres contrôlés : Echantillons	TSH : T161 – T162 17OH-progestérone : H161 – H162 Phénylalanine : P161 – P162 Trypsine IR : M161 – M162 Hémoglobine S : D161 – D162	TSH : T163 – T164 17OH-progestérone : H163 – H164 Phénylalanine : P163 – P164 Trypsine IR : M163 – M164 Hémoglobine S : D163 – D164
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 saisi leurs résultats sur internet avant la date de clôture de l'opération

Résumé des opérations de l'année 2016

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 2016, deux opérations ont été programmées au cours desquelles les paramètres des cinq dépistages ont été contrôlés : phénylalanine (PCU), TSH (HC), 17OH-progestérone (HCS), Trypsine Immuno-Réactive (mucoviscidose) et hémoglobine S (drépanocytose).

Au total 26 laboratoires étaient concernés. Selon l'activité déclarée, 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) 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, amélioration nette de l'écart inter-techniques pour la TSH suite à la re-standardisation du réactif Cisbio, résultats du contrôle qualité du dépistage de la drépanocytose très satisfaisants. Pour la phénylalanine bien qu'une nouvelle trousse de dosage soit utilisée, l'écart inter-techniques reste minime. On note toutefois une augmentation des écarts inter-techniques pour la 17OH Progestérone et pour la trypsine IR.

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

Quatre 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 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 I et sur les figure 1 et 2.

Trois trousse de dosage ont été utilisées : la trousse ELSA TSH-NN Cisbio Bioassays [AN] par 3 laboratoires, la trousse Delfia/Autodelfia hTSH néo Perkin Elmer [KC] par 11 laboratoires et la trousse GSP hTSH Perkin Elmer [KP] par 7 laboratoires.

Lors de la première opération les résultats des trousse Perkin Elmer (AutoDelfia et GSP) ne diffèrent statistiquement pas, ils ont donc été regroupés pour les calculs statistiques. A l'inverse les résultats obtenus pour l'échantillon T164 diffèrent. Pour la seconde opération les résultats obtenus avec les trousse Perkin Elmer sont rendus séparément.

La nette sous-estimation des résultats observée lors de l'opération 16DNN2 avec la trousse GPS Perkin Elmer [KP] est liée à un effet matrice mal expliqué et qui n'avait jamais été observé auparavant (figure2). Une étude complémentaire a été réalisée. Les résultats obtenus pour une vingtaine d'échantillons natifs qui avaient été dosés avec les deux trousse Perkin Elmer entre août et décembre 2016 ont été comparés. L'écart observé lors de l'opération 16DNN2 entre les résultats AutoDelfia et GSP (environ 2) n'est pas retrouvé. Pour les échantillons natifs, le rapport moyen des résultats AutoDelfia / GSP est 1,1 et correspond à l'écart classiquement observé entre ces deux trousse.

Suite à la demande de l'ANSM, la société Cis bio qui sur-dosait 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 : T161 – 20% et T162 – 12%. L'utilisation de seuils différents pour les trois trousse, permet de compenser l'écart subsistant.

Pour tous les niveaux, la précision intra-technique inter-laboratoire des trousse Perkin est convenable généralement proche de 10%. La trousse Cisbio est moins performante avec des CVnp compris entre 12,7 et 20,4%.

Pour les échantillons T161, T162, T163 et T164 l'interprétation des résultats par les biologistes (tableau II) est satisfaisante avec entre 19 et 21 réponses sur 21 en accord avec le consensus. Pour les échantillons T161 et T163, dans tous les cas la conclusion demeure logique au regard du résultat obtenu et des seuils utilisés par les laboratoires.

On peut toutefois noter que l'abaissement par deux laboratoires utilisant la trousse AutoDelfia Perkin Elmer du seuil d'action utilisé (15 et 18 mUI/L / 20 mUI/L) peut conduire, pour un résultat compris entre 10 et 20 mUI/L, à des interprétations différentes. Il en est de même pour le laboratoire utilisant la trousse GSP Perkin Elmer (seuil d'action 12 mUI/L / 17 mUI/L). Chaque laboratoire demeure libre de choisir son seuil d'action, toutefois, afin de maintenir une interprétation consensuelle, l'utilisation des seuils recommandés par l'AFDPHE est préférable.

tableau I : Résultats obtenus pour la TSH.

Opération	Echantillon	Code	Fournisseur	n	Médiane (mUI/L)	CVnp (%)
16DNN1	T161	-	Tous réactifs	63	21,7	9,6
		AN	Cisbio Bioassays	9	25,6	20,4
		KC/KP	Perkin Elmer	54	21,3	8,4
	T162	-	Tous réactifs	63	36,3	10,8
		AN	Cisbio Bioassays	9	47,2	14,1
		KC/KP	Perkin Elmer	54	35,5	9,3
16DNN2	T163	-	Tous réactifs	34	12,6	9,7
		AN	Cisbio Bioassays	4	14,8	NC*
		KC	AutoDelfia - Perkin Elmer	11	12,4	9,0
		KP	GSP - Perkin Elmer	19	12,6	9,4
	T164	-	Tous réactifs	63	42,6	39,0
		AN	Cisbio Bioassays	9	47,4	12,7
		KC	AutoDelfia - Perkin Elmer	33	45,5	10,0
		KP	GSP - Perkin Elmer	21	23,2	9,9

*NC : Non Calculé

tableau II : Récapitulatif des interprétations données lors des opérations 16DNN1 et 16DNN2 pour le dépistage de l'HC.

Opération	Echantillon	Médiane tous réactif (mUI/L)	Interprétation consensus	Nb de laboratoires en accord avec le consensus
16DNN1	T161	21,7	Résultat Pathologique	20/21
	T162	36,3	Résultat Pathologique	21/21
16DNN2	T163	12,6	Résultat Normal	19/21
	T164	42,6	Résultat Pathologique	21/21

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 16DNN1 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.

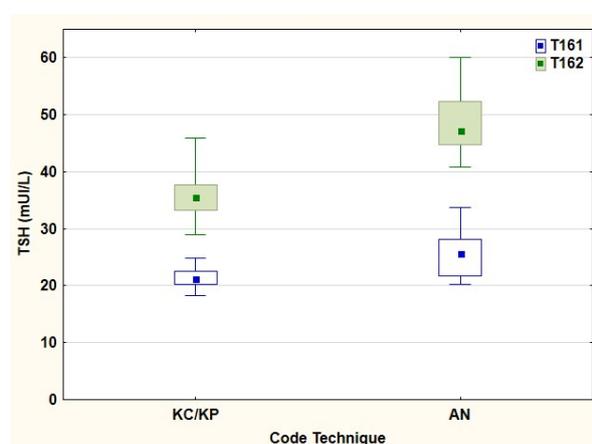
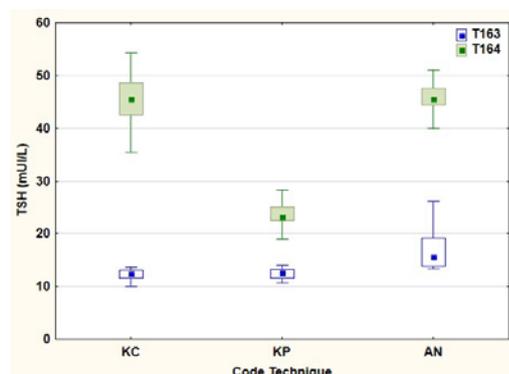


figure 2 : Diagramme « boîte et moustaches » pour la TSH lors de l'opération 16DNN2 en fonction du réactif utilisé. Chaque rectangle représente l'espace interquartile (percentile 75 – percentile 25) avec la position de la médiane (point), les traits inférieurs et supérieurs positionnent le 5^e et le 95^e percentile.



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 les figures 3 et 4.

Comme pour le dosage de la TSH, trois trousse de dosage ont été utilisées par les laboratoires. Trois laboratoires ont utilisé la trousse 17-OHP-NN Cisbio [AN] et neuf puis onze laboratoires, la trousse Delfia / AutoDelfia 17 α OHP néo Perkin Elmer [KC]. La trousse de dosage GSP Perkin Elmer [KP] a été utilisée par neuf puis sept laboratoires.

Lors de la première opération, les résultats des trousse Perkin Elmer (AutoDelfia et GSP) ont été regroupés pour les calculs statistiques (pas de différence statistique). Lors de la seconde opération, les résultats obtenus avec les deux trousse Perkin Elmer diffèrent, avec des résultats inférieurs d'environ 20% pour la trousse GSP Perkin Elmer [KP]. Les résultats obtenus pour les deux trousse Perkin Elmer sont rendus séparément.

Pour les deux opérations, les résultats obtenus avec trousse Cisbio sont significativement plus élevés que les résultats obtenus avec les trousse Perkin Elmer (ANOVA de Kruskal-Wallis, $p < 0,05$).

En 2016, comme lors de la deuxième opération de 2015, les écarts inter-techniques tendent à s'accroître avec une augmentation des résultats obtenus par la technique Cisbio. Il est à noter que cette technique est de moins en moins utilisée (3 laboratoires).

Pour tous les niveaux, la précision intra-technique inter-laboratoire des trousse Perkin est convenable généralement proche de 10%. La trousse Cisbio est moins performante avec des CVnp compris entre 13 et 21%. Toutefois, cette trousse, peu utilisée, n'est pas automatisée. De plus, le volume de sang total (2 μ l) utilisé pour réaliser ce dosage est faible.

Pour les échantillons H161, H162, H163 et H164 l'interprétation des résultats par les biologistes (tableau IV) est satisfaisante avec 21 réponses sur 21 en accord avec le consensus.

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

Opération	Echantillon	Code	Fournisseur	n	Médiane (nmol/L)	CVnp (%)
16DNN1	H161	-	Tous réactifs	63	63,5	13,8
		AN	Cisbio Bioassays	9	134,3	12,9
		KC/KP	Perkin Elmer	54	62,1	9,3
	H162	-	Tous réactifs	51	19,9	8,2
		AN	Cisbio Bioassays	3	35,1	N.C.
		KC/KP	Perkin/Elmer	48	19,8	8,3
16DNN2	H163	-	Tous réactifs	63	49,5	17,1
		AN	Cisbio Bioassays	9	94,5	14,0
		KC	AutoDelfia - Perkin Elmer	33	51,4	8,0
		KP	GSP - Perkin Elmer	21	42,6	11,4
	H164	-	Tous réactifs	63	75,3	18,1
		AN	Cisbio Bioassays	9	202,0	21,1
		KC	AutoDelfia - Perkin Elmer	33	78,0	10,0
		KP	GSP - Perkin Elmer	21	62,7	6,6

tableau IV : Récapitulatif des interprétations données lors des opérations 16DNN1 et 16DNN2 pour le dépistage de l'HCS.

Opération	Echantillon	Médiane tous réactifs (nmol/L)	Interprétation consensus	Nb de laboratoires en accord avec le consensus
16DNN1	H161	63,5	Résultat pathologique	21 / 21
16DNN1	H162	19,9	Résultat normal	21 / 21
16DNN2	H163	49,5	Résultat pathologique	21 / 21
16DNN2	H164	75,3	Résultat pathologique	21 / 21

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 3 : Diagramme « boîte et moustaches » pour la 17OH-progesterone lors de l'opération 16DNN1 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.

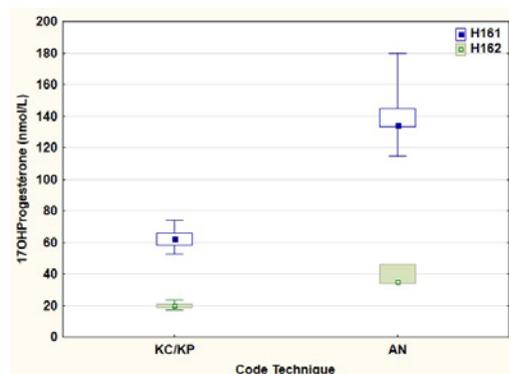
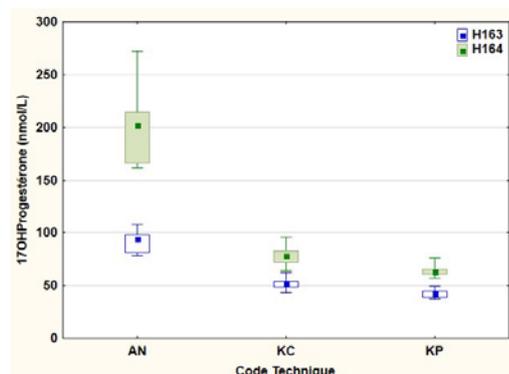


figure 4 : Diagramme « boîte et moustaches » pour la 17OH-progesterone lors de l'opération 16DNN2 en fonction du réactif utilisé. Chaque rectangle représente l'espace interquartile (percentile 75 – percentile 25) avec la position de la médiane (point), les traits inférieurs et supérieurs positionnent 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 5 et 6.

Trois techniques de dosage ont été utilisées par les laboratoires. La grande majorité des laboratoires (15) 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 que par 2 laboratoires. Quatre laboratoires ont réalisés le dosage de la phénylalanine sur l'automate GSP.

En 2016, les échantillons envoyés sont positionnés en dessous (P162) et au-dessus du seuil décisionnel (P161, P163, P164). Les échantillons P163 et P164 provenait d'un même lot de fabrication.

Comme attendu, les résultats des échantillons P163 et P164 sont comparables quelle que soit la technique utilisée.

La précision intra-technique inter-laboratoire de la technique fluorimétrique est satisfaisante avec des CVnp proche de 10%, sans changement par rapport aux résultats obtenus antérieurement pour des échantillons de concentrations équivalentes.

L'interprétation finale des résultats par les biologistes (tableau VI) est satisfaisante, avec 18 et 21 réponses sur 21 en accord avec le consensus. 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 phénylalanine.

Opération	Echantillon	Code	Fournisseur	n	Médiane (µmol/L)	CVnp (%)
16DNN1	P161	-	Tous réactifs	63	254,1	9,6
		QU	Bio-Rad	6	240,6	14,4
		6X	manuelle	45	261,0	9,4
		KP	Perkin Elmer GSP	12	221,1	13,4
	P162	-	Tous réactifs	55	157,3	12,1
		QU	Bio-Rad	6	146,7	12,4
		6X	manuelle	41	159,0	12,0
		KP	Perkin Elmer GSP	8	147,1	19,8
16DNN2	P163	-	Tous réactifs	63	501,0	8,3
		QU	Bio-Rad	6	504,6	2,7
		6X	manuelle	45	490,0	8,5
		KP	Perkin Elmer GSP	12	557,2	6,9
	P164	-	Tous réactifs	63	508,2	10,4
		QU	Bio-Rad	6	445,5	8,0
		6X	manuelle	45	505,5	7,1
		KP	Perkin Elmer GSP	12	578,0	12,1

tableau VI : Récapitulatif des interprétations données lors des opérations 16DNN1 et 16DNN2 pour le dépistage de la PCU.

Opération	Echantillon	Médiane tous réactifs (µmol/L)	Interprétation consensus	Nbre de laboratoires en accord avec le consensus
16DNN1	P161	254,1	Résultat pathologique	21 / 21
	P162	157,3	Résultat normal	18 / 21
16DNN2	P163	501,0	Résultat pathologique	21 / 21
	P164	508,0	Résultat pathologique	21 / 21

NB: les seuils recommandés par l'AFDPHE sont 150 µmol/L pour le seuil de « retest » (contrôle du résultat en duplicate) et 180 µmol/L pour le seuil d'action (demande d'un second prélèvement ou convocation du nouveau-né).

figure 5 : Diagramme « boîte et moustaches » pour la phénylalanine lors de l'opération 16DNN1 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.

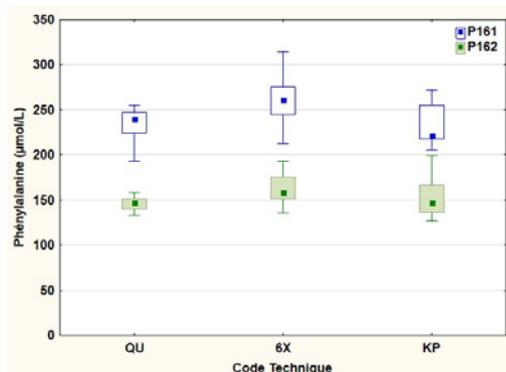
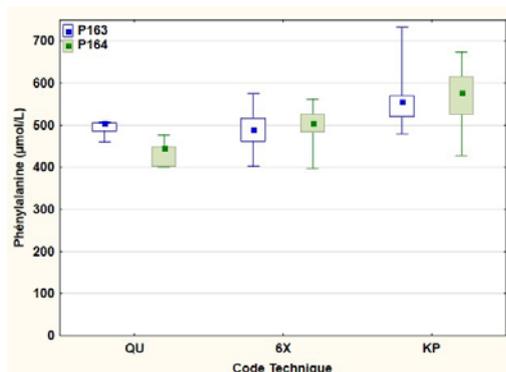


figure 6 : Diagramme « boîte et moustaches » pour la phénylalanine lors de l'opération 16DNN2 en fonction du réactif utilisé. Chaque rectangle représente l'espace interquartile (percentile 75 – percentile 25) avec la position de la médiane (point), les traits inférieurs et supérieurs positionnent le 5^e et le 95^e percentile.



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, 8 et 9.

Trois trousse de dosage ont été utilisées par les laboratoires. Trois laboratoires ont utilisé la trousse RIA-gnost Trypsin neonatal Cisbio [AN], treize puis douze laboratoires, la trousse Delfia/AutoDelfia IRT Perkin Elmer [KC] et cinq puis six laboratoires la trousse GSP Perkin Elmer [KP].

Les résultats des trousse Perkin Elmer (AutoDelfia et GSP) ne diffèrent statistiquement pas. Ils ont été regroupés pour les calculs statistiques lors de la première opération. Lors de la seconde opération par homogénéité avec les résultats rendus pour les autres paramètres, les résultats des deux réactifs ont été séparés.

En 2016, les échantillons envoyés sont positionnés en dessous des seuils d'action (M161, M162, M163, M14).

Deux des échantillons envoyés (M162 et M163) 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 la bonne stabilité des résultats obtenus au cours de l'année 2016 (figure 9).

Pour chaque échantillon, les résultats diffèrent significativement selon la technique utilisée (ANOVA de Kruskal-Wallis, $p < 0,001$). 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 compris entre 30% et 67%, en augmentation en regard des résultats obtenus en 2015.

La précision intra-technique inter-laboratoire des trousse Perkin Elmer (CVnp) est satisfaisante, proche de 10%. La trousse Cisbio est moins performante avec des CVnp proche de 18%.

L'interprétation finale des résultats par les biologistes est satisfaisante, avec 21, 18, 19 et 20 réponses sur 21 en accord avec le consensus (tableau VIII).

Pour les échantillons M162 et M163, compte-tenu de l'écart inter-techniques et de la cible proche du seuil, la conclusion dépend clairement du réactif utilisé : les utilisateurs Perkin Elmer ont majoritairement rendu « résultat normal » et les utilisateurs Cisbio « résultat pathologique ». 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 trypsin IR.

Opération	Echantillon	Code	Fournisseur	n	Médiane (µg/L)	CVnp (%)
16DNN1	M161	-	Tous réactifs	21	31,9	9,5
		AN	Cisbio Bioassays	3	39,8	N.C.*
		KC/KP	Perkin Elmer	18	30,5	8,6
	M162	-	Tous réactifs	35	51,2	33,6
		AN	Cisbio Bioassays	9	77,0	6,8
		KC/KP	Perkin Elmer	26	48,8	11,5
16DNN2	M163	-	Tous réactifs	35	48,7	12,9
		AN	Cisbio Bioassays	9	68,6	18,0
		KC	AutoDelfia - Perkin Elmer	12	45,7	13,1
		KP	GSP - Perkin Elmer	14	48,0	8,9
	M164	-	Tous réactifs	25	41,8	24,6
		AN	Cisbio Bioassays	7	62,2	18,5
		KC	AutoDelfia - Perkin Elmer	12	37,3	11,9
		KP	GSP - Perkin Elmer	6	41,4	8,2

*NC : Non Calculé

tableau VIII : Récapitulatif des interprétations données lors des opérations 16DNN1 et 16DNN2 pour la TIR.

Opération	Echantillon	Médiane tous réactifs (µg/L)	Interprétation consensus	Nb de laboratoires en accord avec le consensus
16DNN1	M161	31,9	Résultat normal	21 / 21
	M162	51,2	Résultat normal	18 / 21
16DNN2	M163	48,7	Résultat normal	19 / 21
	M164	41,8	Résultat normal	20 / 21

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 7 : Diagramme « boîte et moustaches » pour la trypsine IR lors de l'opération 16DNN1 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

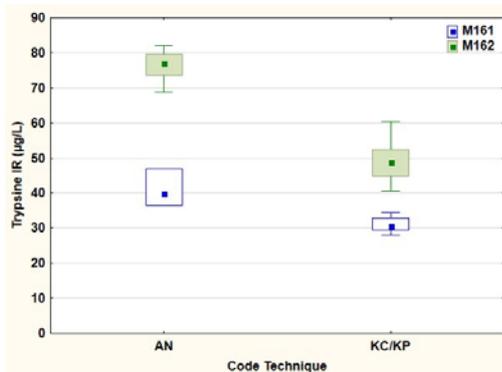


figure 8 : Diagramme « boîte et moustaches » pour la trypsine IR lors de l'opération 16DNN2 en fonction du réactif utilisé. Chaque rectangle représente l'espace interquartile (percentile 75 – percentile 25) avec la position de la médiane (point), les traits inférieurs et supérieurs positionnent le 5^e et le 95^e percentile.

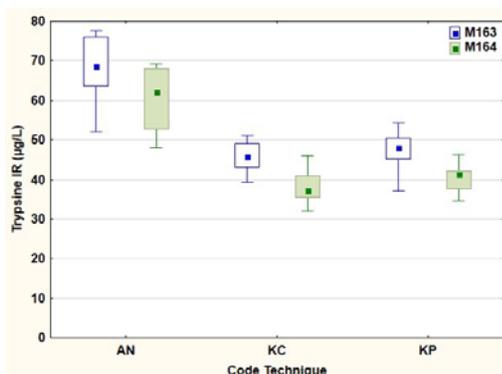
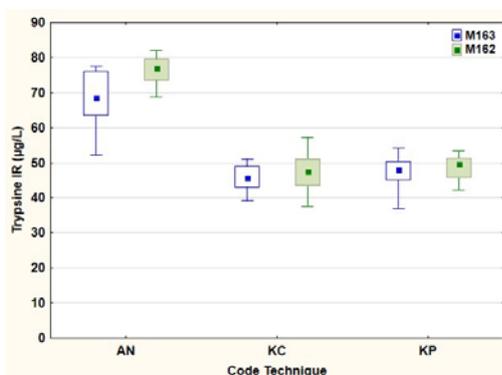


figure 9 : Diagramme « boîte et moustaches » pour la trypsine IR lors de l'opération 16DNN1 et 16DNN2 (échantillon M162 et M163) en fonction du réactif utilisé. Chaque rectangle représente l'espace interquartile (percentile 75 – percentile 25) avec la position de la médiane (point), les traits inférieurs et supérieurs positionnent le 5^e et le 95^e percentile.



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 IX.

Les résultats sont très satisfaisants. Pour les échantillons D162, D163, D164, les cinq laboratoires ont rendu les mêmes résultats et ils ont conclu de manière identique. Les résultats étaient en accord avec la réponse attendue.

Pour l'échantillon D161, l'un des laboratoires signale une discordance de résultat entre les deux techniques utilisées. L'hémoglobine A n'est pas identifiée avec la technique par isoélectrofocalisation. Une mauvaise conservation de l'échantillon pourrait en être la cause.

Les techniques utilisées par les cinq laboratoires participants sont données dans le tableau X. 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 capillaire de zone puis une CHLP par échange de cations.

tableau IX : Résultats obtenus pour le dépistage de la drépanocytose.

Opération	Echantillon	Fractions d'Hb identifiées	Conclusion	Nb de laboratoires en accord avec la conclusion
16DNN1	D161	HbF / HbA	Résultat normal	5/5
	D162	HbF / HbA / HbS	Enfant hétérozygote AS	5/5
16DNN2	D163	HbF / HbA / HbS	Enfant hétérozygote AS	5/5
	D164	HbF / HbA	Résultat normal	5/5

tableau X : 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, phénylalanine et trypsine IR ont été évalués au regard des limites acceptables définies dans le tableau XI. Le résultat du dosage initial et la valeur prise compte lors du 2^e dosage, si celui-ci est réalisé, ont été évalués.

Les résultats sont satisfaisants (tableau XII).

tableau XI – Limites acceptables appliquées en 2016.

	Echantillons															
	T161	T162	T163	T164	H161	H162	H163	H164	P161	P162	P163	P164	M161	M162	M163	M164
TSH	25%	20%	25%	20%												
17 OH-progestérone					20%	30%	20%	20%								
Phénylalanine									25%	30%	25%	25%				
Trypsine IR													20%	20%	20%	20%

tableau XII – Pourcentage de « bons résultats » évalués en A ou en B en 2016.

	16DNN1	16DNN2
TSH	96,4% (81 / 84)	92,9% (65 / 70)
17 OH-progestérone	98,7% (74 / 75)	92,9% (83 / 84)
Phénylalanine	95,0% (76 / 80)	97,6% (82 / 84)
Trypsine IR	89,1% (41 / 46)	96,1% (49 / 51)

Commentaires sur les résultats

1 - TSH

Lors des opérations réalisées en 2016, suite au changement de calibration de la trousse Cisbio en juillet 2015, l'écart entre les résultats obtenus d'une part, avec les trousse Perkin Elmer et d'autre part, avec la trousse Cisbio demeure faible (moins de 20%)

Pour rappel, les deux fabricants avaient été questionnés par l'ANSM sur la traçabilité de leurs trousse en regard du 3^e standard préparé par l'International Society of Neonatal Screening (ISNS).

En réponse à cette demande, la société Perkin Elmer avait établi que la trousse de TSH AutoDelfia est parfaitement raccordée et la société Cis bio qui surdosait d'environ 25%, a modifié en conséquence la calibration de son dosage de TSH.

La nette sous-estimation des résultats observée lors de l'opération 16DNN2 avec la trousse GSP Perkin Elmer [KP] est liée à un effet matrice comme l'étude complémentaire réalisée sur des échantillons natifs l'a montré.

2 - 17OH-progestérone

L'écart inter-techniques observé lors des opérations du CNQ est en partie expliqué par la sous-estimation du 3^e standard ISNS de 17 OH-progestérone de la trousse AutoDelfia Perkin. Les résultats obtenus au moyen de cette 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 ».

En 2016, les écarts inter-techniques tendent à s'accroître avec une augmentation des résultats obtenus par la technique Cisbio.

L'étude des paramètres caractéristiques de la distribution des valeurs observées en routine et en particulier, le pourcentage de résultats au-dessus du seuil d'action confirme cet écart, avec 0,37% de résultats au-dessus du seuil pour la trousse Cisbio et seulement 0,13% pour la trousse AutoDelfia et 0,15% pour la trousse GSP.

3 - Phénylalanine

Pour la grande majorité des laboratoires le dosage de phénylalanine est toujours réalisé 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 satisfaisants. Ainsi pour les opérations réalisées depuis 2005, le CV médian de la technique fluorimétrique (10,2%) est comparable à celui obtenu par la technique Bio-Rad Quantase (10,3%) ainsi que celui de la trousse automatisée GSP PKU néonatal, Perkin Elmer (12,75%).

4 - Trypsine IR

La première opération de contrôle réalisée par le CNQ a eu lieu en 2007. Comme chaque année depuis 2007 on observe en 2016 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 trouses 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.

L'étude du 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, montre que le pourcentage d'analyses génétiques demandées, pour les laboratoires utilisant la trousse Cisbio et la trousse GSP, a tendance à augmenter (Cisbio : 0,91% et GSP : 0,63%). Toutefois, le pourcentage global d'analyses génétiques demandées demeure proche de 0,5%.

5 – dépistage de la drépanocytose

Les résultats obtenus en 2016 sont très satisfaisants.

Conclusion

Les résultats obtenus lors des opérations du contrôle national de qualité « dépistage néonatal 2016 » sont globalement satisfaisants.

On note toutefois une augmentation des écarts inter-techniques pour la 17OH Progestérone et pour la trypsine IR.

Pour la phénylalanine bien qu'une nouvelle trousse de dosage soit utilisée, l'écart inter-techniques reste minime.

Pour la TSH, suite à la demande de l'ANSM, la société Cisbio a modifié la calibration de sa trousse. Les résultats 2016 confirment une nette amélioration de l'écart inter-techniques.

Pour le dépistage de la drépanocytose, Les résultats obtenus sont très satisfaisants.

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