

Annales du contrôle national de qualité des analyses de biologie médicale

Dépistage néonatal	18DNN1	décembre 2018
---------------------------	---------------	----------------------

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

avril 2019

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

	18DNN1
Expédition	10/12/2018
Clôture	14/01/2019
Edition des compte-rendus individuels	18/03/2019
Paramètres contrôlés : Echantillons	TSH : T181 – T182 17OH-progestérone : H181 – H182 Phénylalanine : P181 – P182 Trypsine IR : M181 – M182 Hémoglobine S : D181 – D182
Nombre de laboratoires concernés*	20
Nombre de laboratoires participants**	20

* 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 2018

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 2018, une opération a été programmée au cours de laquelle les paramètres des cinq dépistages ont été contrôlés : TSH (HC), 17OH-progestérone (HCS), phénylalanine (PCU), trypsine Immuno-Réactive (mucoviscidose) et hémoglobine S (drépanocytose).

Au total 20 laboratoires étaient concernés. Selon l'activité déclarée, les laboratoires ont reçu les échantillons pour dosage de la TSH, de la 17OH-progestérone, de la phénylalanine 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 faibles.

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 6. 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 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.

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.

Deux trousse de dosage ont été utilisées : la trousse Autodelfia hTSH néo Perkin Elmer [KC] par 8 laboratoires et la trousse GSP hTSH Perkin Elmer [KP] par 9 laboratoires. A noter, la trousse Cisbio n'est plus utilisée.

Pour les deux échantillons, les résultats obtenus avec les trousse Perkin Elmer (AutoDelfia et GSP) diffèrent significativement ($p < 0,05$, test U de Mann et Whitney). Toutefois l'écart inter-technique est faible (7% pour l'échantillon T181 et 10% pour l'échantillon T182). De plus, l'utilisation de seuils différents pour les deux trousse, permet de compenser l'écart existant.

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

Pour les échantillons T181 et T182 l'interprétation des résultats par les biologistes (tableau II) est satisfaisante avec 17 réponses sur 17 en accord avec le consensus.

tableau I : Résultats obtenus pour la TSH.

Opération	Echantillon	Code	Fournisseur	n	Médiane (mUI/L)	CVnp (%)
18DNN1	T181	-	Tous réactifs	51	41,1	8,7
		KC	Auto Delfia - Perkin Elmer	24	43,5	8,6
		KP	GSP – Perkin Elmer	27	40,6	8,4
	T182	-	Tous réactifs	51	52,1	8,7
		KC	Auto Delfia - Perkin Elmer	24	56,7	8,8
		KP	GSP – Perkin Elmer	27	51,5	10,2

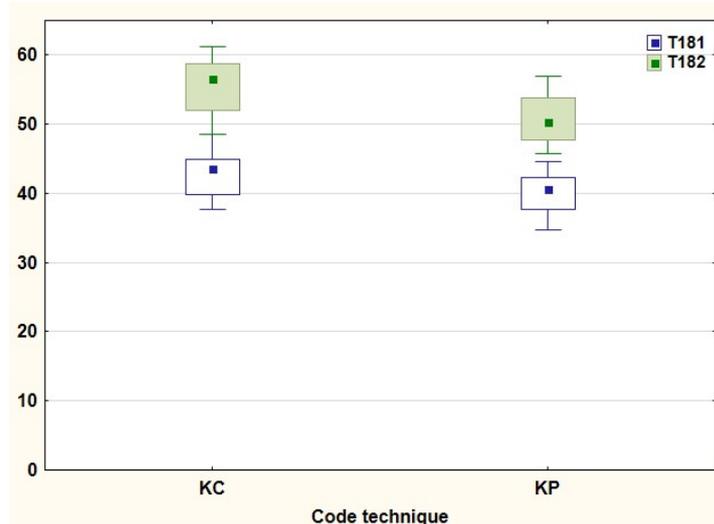
tableau II : Récapitulatif des interprétations données lors de l'opération 18DNN1 pour le dépistage de l'HC.

Opération	Echantillon	Médiane tous réactif (mUI/L)	Interprétation consensus	Nb de laboratoires en accord avec le consensus
18DNN1	T181	41,1	Résultat Pathologique	17/17
	T182	52,1	Résultat Pathologique	17/17

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

- 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 18DNN1 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-progesterone

Les principaux résultats concernant le dosage de la 17OH-progesterone 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, deux trousse de dosage ont été utilisées par les laboratoires. Huit laboratoires ont utilisé la trousse AutoDelfia 17 α OHP néo Perkin Elmer [KC] et neuf laboratoires, la trousse de dosage GSP Perkin Elmer [KP]. A noter, la trousse Cisbio n'est plus utilisée.

Aucune différence significative (test U de Mann et Whitney) n'a été observée entre les résultats obtenus avec les trousse AutoDelfia et GSP (Perkin Elmer).

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

Pour les deux échantillons, l'interprétation des résultats par les biologistes (tableau IV) est satisfaisante avec 17 réponses sur 17 en accord avec le consensus.

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

Opération	Echantillon	Code	Fournisseur	n	Médiane (nmol/L)	CVnp (%)
18DNN1	H181	-	Tous réactifs	51	52,1	11,8
		KC	Auto Delfia - Perkin Elmer	24	54,3	13,0
		KP	GSP – Perkin Elmer	27	51,5	10,2
	H182	-	Tous réactifs	51	57,6	8,0
		KC	Auto Delfia - Perkin Elmer	24	58,8	12,3
		KP	GSP – Perkin Elmer	27	56,4	6,7

tableau IV : Récapitulatif des interprétations données lors de l'opération 18DNN1 pour le dépistage de l'HCS.

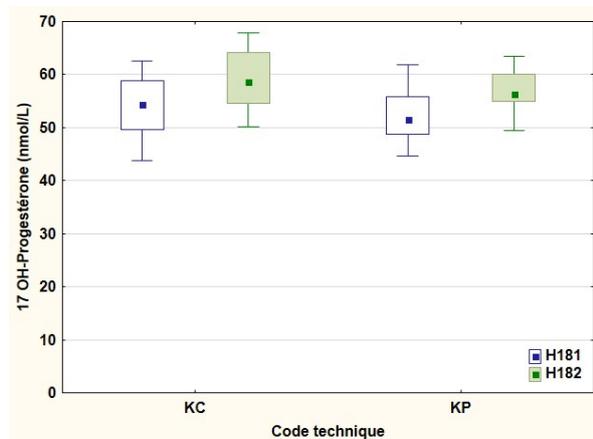
Opération	Echantillon	Médiane tous réactifs (nmol/L)	Interprétation consensus	Nb de laboratoires en accord avec le consensus
18DNN1	H181	52,1	Résultat pathologique	17 / 17
	H182	57,6	Résultat pathologique	17 / 17

NB: les seuils qui étaient recommandés par l'AFDPHE sont :

- 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 18DNN1 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 la figure 3.

Deux techniques de dosage ont été utilisées par les laboratoires. La grande majorité des laboratoires (11) dosent la phénylalanine grâce à une technique fluorimétrique [6X]. Cinq laboratoires ont réalisés le dosage de la phénylalanine sur l'automate GSP Perkin Elmer [KP]. A noter, la trousse quantase de Bio Rad n'est plus utilisée.

Pour les deux échantillons, les résultats obtenus avec la trousse Perkin Elmer GSP diffèrent significativement de ceux obtenus avec la technique fluorimétrique ($p < 0,05$, test U de Mann et Whitney). Toutefois l'écart inter-technique est faible (6,3% pour l'échantillon P181 et 7,2% pour l'échantillon P182).

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 16 (P181) et 12 réponses (P182) sur 16 en accord avec le consensus. Pour l'échantillon P182, la concentration cible est proche du seuil ce qui explique les quatre conclusions divergentes. Toutefois, la conclusion demeure logique au regard du résultat obtenu et des seuils utilisés par le laboratoire.

tableau V : Résultats obtenus pour la phénylalanine.

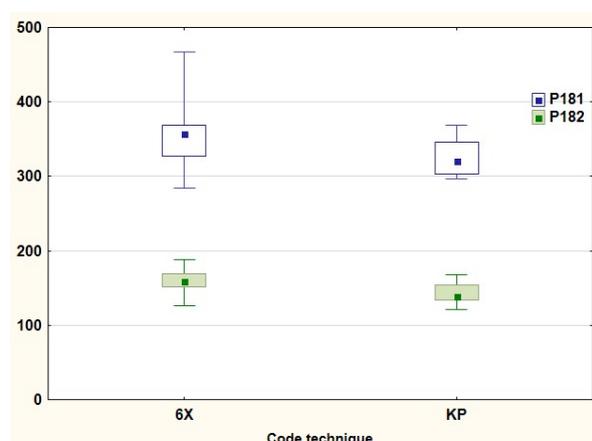
Opération	Echantillon	Code	Fournisseur	n	Médiane ($\mu\text{mol/L}$)	CVnp (%)
18DNN1	P181	-	Tous réactifs	42	347,1	9,3
		6X	manuelle	33	357,0	9,7
		KP	Perkin Elmer GSP	9	335,1	9,3
	P182	-	Tous réactifs	36	157,6	10,1
		6X	manuelle	29	159,6	9,3
		KP	Perkin Elmer GSP	7	148,2	15,0

tableau VI : Récapitulatif des interprétations données lors de l'opération 18DNN1 pour le dépistage de la PCU.

Opération	Echantillon	Médiane tous réactifs (µmol/L)	Interprétation consensus	Nbre de laboratoires en accord avec le consensus
18DNN1	P181	347,1	Résultat pathologique	16 / 16
	P182	157,6	Résultat normal	12 / 16

NB: les seuils qui étaient 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 3 : Diagramme « boîte et moustaches » pour la phénylalanine lors de l'opération 18DNN1 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 la figure 4.

Deux trousse de dosage ont été utilisées par les laboratoires. Dix laboratoires ont utilisé la trousse AutoDelfia IRT Perkin Elmer [KC] et sept laboratoires la trousse GSP Perkin Elmer [KP]. A noter, la trousse Cisbio n'est plus utilisée.

Aucune différence significative (test U de Mann et Whitney) n'a été observée entre les résultats obtenus avec les trousse AutoDelfia et GSP (Perkin Elmer).

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

L'interprétation finale des résultats par les biologistes est satisfaisante, avec 17 réponses sur 17 en accord avec le consensus (tableau VIII).

tableau VII : Résultats obtenus pour la trypsin IR.

Opération	Echantillon	Code	Fournisseur	n	Médiane (µg/L)	CVnp (%)
18DNN1	M181	-	Tous réactifs	17	43,1	7,7
		KC	Auto Delfia - Perkin Elmer	10	42,0	9,2
		KP	GSP – Perkin Elmer	7	43,7	7,3
	M182	-	Tous réactifs	17	35,0	7,1
		KC	Auto Delfia - Perkin Elmer	10	34,8	6,8
		KP	GSP – Perkin Elmer	7	37,1	6,8

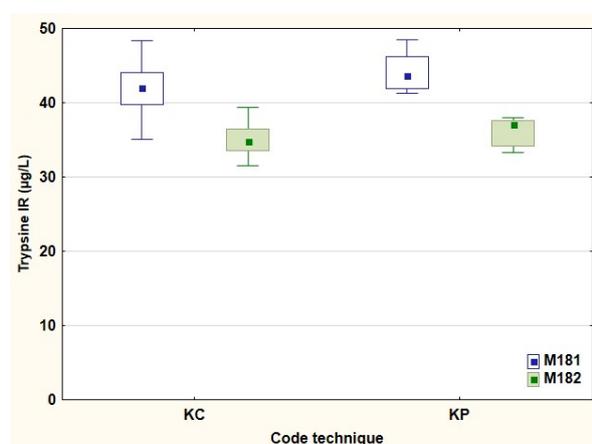
tableau VIII : Récapitulatif des interprétations données lors de l'opérations 18DNN1 pour la TIR.

Opération	Echantillon	Médiane tous réactifs (µg/L)	Interprétation consensus	Nb de laboratoires en accord avec le consensus
18DNN1	M181	43,1	Résultat normal	17 / 17
	M182	35,0	Résultat normal	17 / 17

NB: les seuils qui étaient recommandés par l'AFDPHE sont :

- avec la technique [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 4 : Diagramme « boîte et moustaches » pour la trypsine IR lors de l'opération 18DNN1 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 D181 et D182 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 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 de zone capillaire 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
18DNN1	D181	HbF /HbA / HbS	Enfant hétérozygote AS	5/5
	D182	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 (Capillarys 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 très satisfaisants (tableau XII).

tableau XI – Limites acceptables appliquées en 2018.

	Echantillons							
	T181	T182	H181	H182	P181	P182	M181	M182
TSH	20%	20%						
17 OH-progestérone			20%	20%				
Phénylalanine					25%	30%		
Trypsine IR							20%	20%

tableau XII – Pourcentage de « résultats conformes » évalués en A ou en B en 2018.

	18DNN1
TSH	100% (68 / 68)
17 OH-progestérone	97,0% (66 / 68)
Phénylalanine	84,7%(50 / 59)*
Trypsine IR	100% (34 / 34)

*dont 6 résultats non conformes liés à une erreur d'unité.

Conclusion

Les résultats obtenus lors de l'opération du contrôle national de qualité « dépistage néonatal 2018 » sont globalement satisfaisants et l'interprétation des résultats par les laboratoires impliqués dans le dépistage néonatal a été cohérente.