

Annales du contrôle national de qualité des analyses de biologie médicale

Dépistage néonatal**14DNN1 et 14DNN2****juillet et octobre 2014****Dépistage néonatal :**

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

Octobre 2015

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

	14DNN1	14DNN2
Expédition	9/07/2014	13/10/2014
Clôture	25/08/2014	10/11/2014
Edition des compte-rendus individuels	10/10/2014	16/01/2015
Paramètres contrôlés : Echantillons	TSH : T141 17OH-progestérone : H141 Phénylalanine : P141 Trypsine IR : M141 Hémoglobine S : D141 – D142	TSH : T142 17OH-progestérone : H142 Phénylalanine : P142 Trypsine IR : M142 Hémoglobine S : D143 – D144
Nombre de laboratoires concernés*	31	30
Nombre de laboratoires participants**	31	30

* 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 2014

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 2014, deux opérations ont été programmées au cours desquelles les paramètres des cinq dépistages ont été contrôlés : phénylalanine (PCU), TSH (HC), 17 OH-progestérone (HCS), Trypsine Immuno-Réactive (mucoviscidose) et hémoglobine S (drépanocytose). Le contrôle de qualité du dépistage de la drépanocytose était réalisé pour la première fois au niveau national. 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.

Au total 31 puis 30 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, écarts inter-techniques observés pour la TSH, la 17OH-progestérone et la Trypsine IR du même ordre que ceux habituellement observés sans nouveaux biais. De plus, les résultats du contrôle de qualité du dépistage de la drépanocytose sont très satisfaisants.

On note également une bonne participation des laboratoires au contrôle national de qualité et une 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

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 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 ».

Les échantillons « drépanocytose » sont des taches de sang déposées sur papier buvard réalisées avec des prélèvements de sang natif. Quatre échantillons ont été envoyés lors des 2 opérations de contrôle.

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 4 laboratoires, la trousse Delfia/Autodelfia hTSH néo Perkin Elmer [KC] par 12 laboratoires et la nouvelle trousse GSP hTSH Perkin Elmer [KP] par 5 laboratoires. Les résultats des automates Perkin Elmer (AutoDelfia et GSP) ne diffèrent statistiquement pas, ils ont donc été regroupés pour les calculs statistiques.

Pour les deux niveaux, la précision des trousse est convenable, généralement proche de 10%. Toutefois, la trousse IBA Cis bio est moins performante pour le niveau bas (T141) avec un CVnp de 30%.

Les résultats diffèrent significativement selon le fabricant (figure 1 et 2). 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 proche de 50% (T141 et T142 - 46%). Pour une valeur cible inférieure à 20 mUI/L, l'écart observé en 2014 est plus faible que celui observé en 2012 et en 2013 (T122 - 2012 écart de 68%, T132 – 2013 écart 69%) mais demeure important. Les deux fabricants ont 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). L'ANSM a demandé à la société Cis bio d'effectuer une re-calibration de sa trousse sur le 3^e standard ISNS. Nous sommes en attente de la finalisation de cette action.

Pour les échantillons T141 et T142, l'interprétation des résultats par les biologistes (tableau II) est satisfaisante avec 17 et 20 réponses sur 21 en accord avec le consensus. Pour l'échantillon T142, un laboratoire n'a pas rendu de conclusion. Pour l'échantillon T141, dans tous les cas la conclusion demeure logique au regard du résultat obtenu et des seuils utilisés par le laboratoire.

On peut toutefois noter que l'abaissement par trois laboratoires utilisant la trousse Auto Delfia Perkin Elmer du seuil d'action utilisé (12, 15 et 18 mUI/L / 20 mUI/L) peut conduire, pour un résultat compris entre 10 et 20 mUI/L, à des interprétations différentes. 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 lors des opérations du CNQ.

tableau I : résultats obtenus pour la TSH.

Opération	Echantillon	Code	Fournisseur	n	Médiane*	CV np (%)
14DNN1	T141	-	Tous réactifs	61	16,6	18,1
		AN	IBA Cis bio	12	23,0	30,1
		KC/KP	Perkin Elmer	49	15,7	12,0
14DNN2	T142	-	Tous réactifs	63	44,2	11,6
		AN	IBA Cis bio	12	63,9	10,2
		KC/KP	Perkin Elmer	51	43,7	8,7

* exprimé en mUI/L de sang total

tableau II : récapitulatif des interprétations données lors des opérations 14DNN1 et 14DNN2 pour le dépistage de l'HC.

Opération	Echantillon	Médiane* (mUI/L)	Interprétation consensus	Nb de laboratoires en accord avec le consensus
14DNN1	T141	16,6	Résultat normal	17 / 21
14DNN2	T142	44,2	Résultat pathologique	20 / 21

*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 mU/L pour le seuil d'action.
- avec la technique KP : 12 mUI/L pour le seuil de « retest » et 15 mU/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 de l'opération 14DNN1 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.

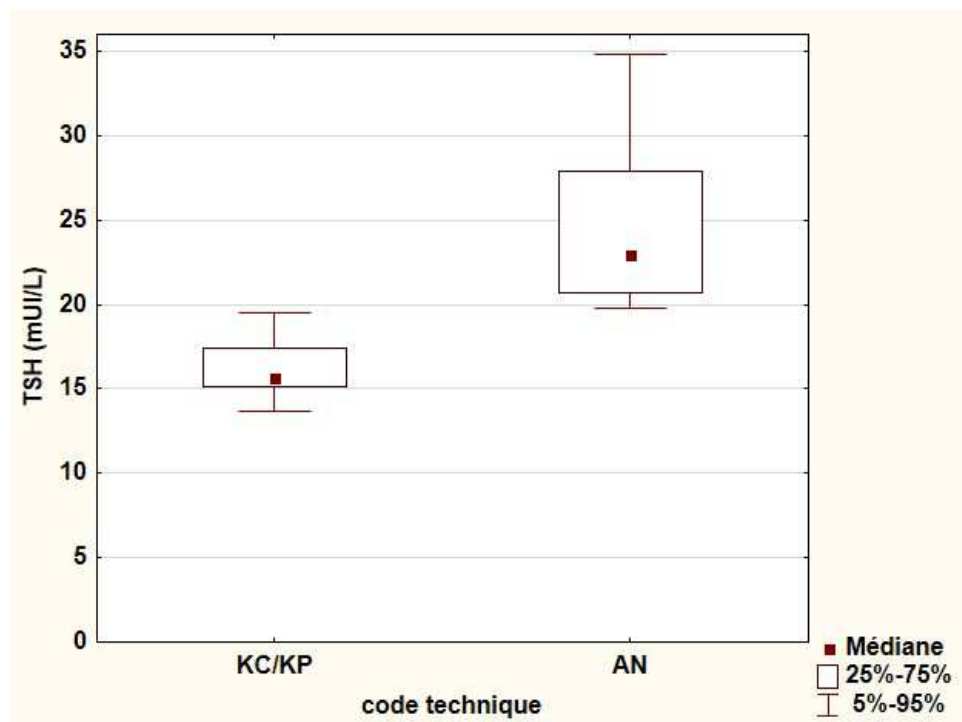
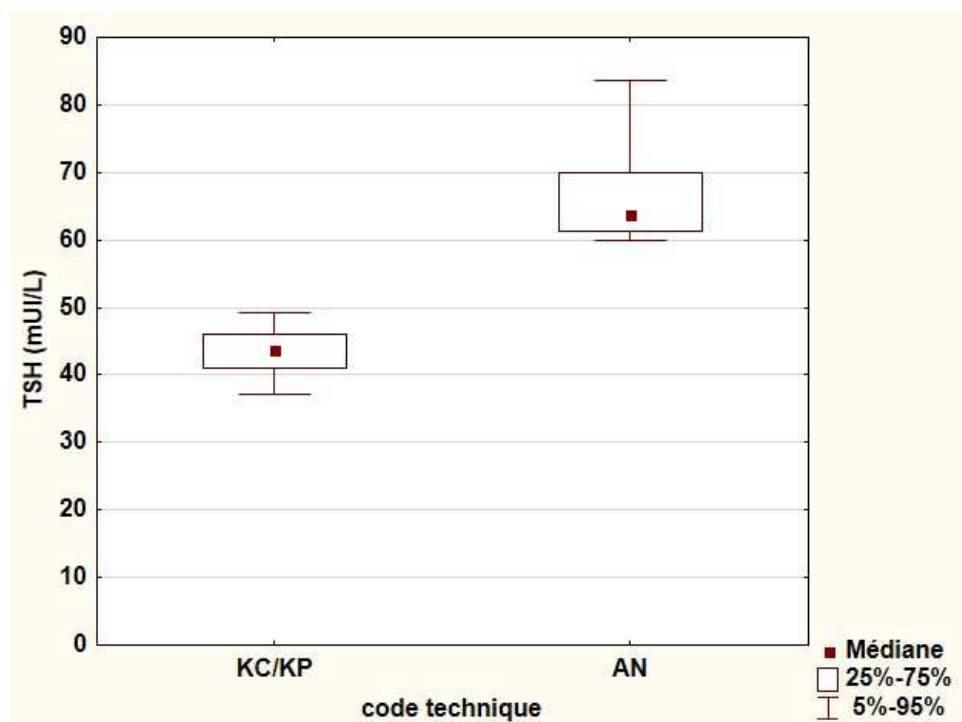


figure 2 : diagramme « boîte et moustaches » pour la TSH lors de l'opération 14DNN2 en fonction du réactif utilisé. Chaque rectangle représente l'espace interquartile (percentile 75 – percentile 25) avec la position de la médiane (point), les traits inférieurs et supérieurs positionnent le 5^e et le 95^e percentile.



17OH-progestérone

Les principaux résultats concernant le dosage de la 17 OH-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. Cinq laboratoires ont utilisé la trousse 17-OHP-NN Cis bio [AN] et 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 cinq laboratoires. Les résultats des automates Perkin Elmer (AutoDelfia et GSP) ont été regroupés pour les calculs statistiques (pas de différence statistique).

Pour l'échantillon H141, la précision de chaque trousse est correcte avec des CV np inférieur à 10%. Pour le niveau haut (H142), la précision est moindre avec des CV np compris entre 8 et 16%, elle demeure toutefois 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 les trousse Perkin Elmer (Test U de Mann-Whitney, $p < 0,05$). Pour le niveau haut (H142), l'écart inter-technique tend à s'accroître par rapport aux résultats obtenus en 2011 (H111 – écart 75% vs H142 – écart 92%). Pour le niveau bas, l'écart inter-technique reste stable en regard des résultats obtenus en 2012 pour une concentration similaire (H121 – écart 52% vs H141 – écart 50%).

Pour les échantillons H141 et H142, l'interprétation des résultats par les biologistes (tableau IV) est satisfaisante avec 16 et 20 réponses sur 21 en accord avec le consensus. Pour l'échantillon H142, un laboratoire n'a pas rendu de conclusion. Pour l'échantillon H141, la conclusion dépend clairement du réactif utilisé : les utilisateurs Perkin Elmer ont tous rendu « résultat pathologique » et les utilisateurs Cis bio « résultat normal ». 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-progestérone.

Opération	Echantillon	Code	Fournisseur	n	Médiane*	CV np (%)
14DNN1	H141	-	Tous réactifs	61	36,8	14,1
		AN	IBA Cis bio	13	54,0	6,8
		KC/KP	Perkin Elmer	48	35,5	4,2
14DNN2	H142	-	Tous réactifs	63	57,1	17,4
		AN	IBA Cis bio	15	106,0	15,8
		KC/KP	Perkin Elmer	48	55,1	7,8

*exprimé en nmol/L de sang total

tableau IV : récapitulatif des interprétations données lors des opérations 14DNN1 et 14DNN2 pour le dépistage de l'HCS.

Opération	Echantillon	Médiane* (nmol/L)	Interprétation consensus	Nb de laboratoires en accord avec le consensus
14DNN1	H141	36,8	Résultat pathologique	16 / 21
14DNN2	H142	57,1	Résultat pathologique	20 / 21

*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 ;

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 3 : diagramme « boîte et moustaches » pour la 17 OH-progesterone lors de l'opération 14DNN1 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.

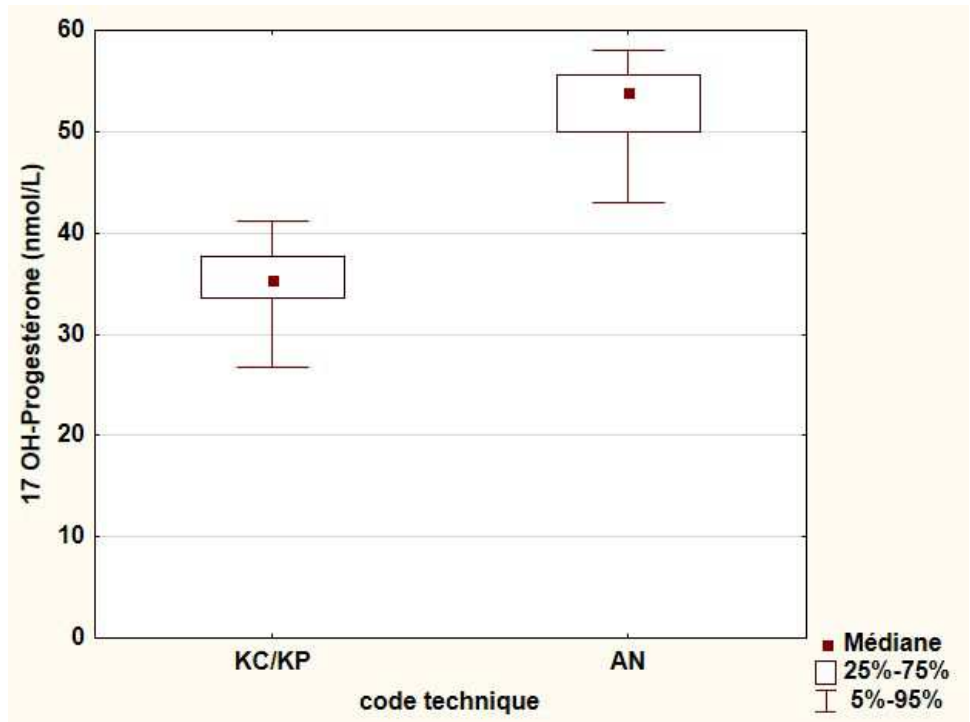
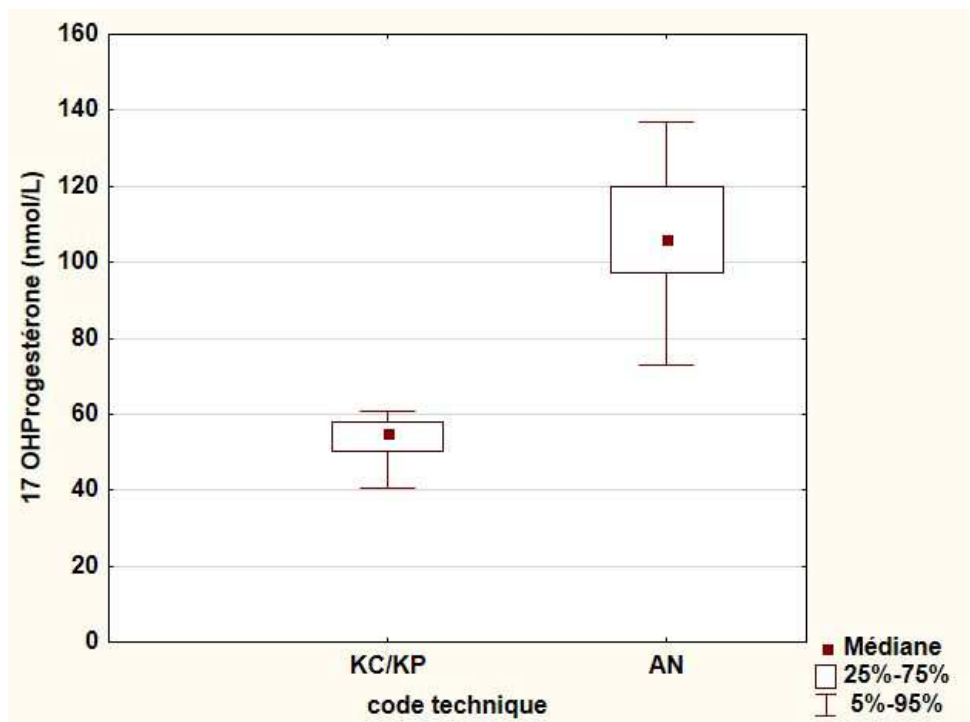


figure 4 : diagramme « boîte et moustaches » pour la 17 OH-progesterone lors de l'opération 14DNN2 en fonction du réactif utilisé. Chaque rectangle représente l'espace interquartile (percentile 75 – percentile 25) avec la position de la médiane (point), les traits inférieurs et supérieurs positionnent 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.

Deux techniques de dosage ont été utilisées par les laboratoires. La grande majorité des laboratoires (19) 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.

En 2014, les échantillons envoyés sont positionnés au-dessus du seuil décisionnel. La médiane des résultats obtenus avec l'échantillon P142 est très proche du seuil décisionnel.

Les résultats de l'échantillon P141 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. Toutefois, pour l'échantillon P142, la médiane des résultats obtenus avec technique fluorimétrique est significativement plus élevée que la médiane des résultats obtenus avec la trousse Bio Rad [QU] (Test U de Mann-Whitney, $p < 0,05$).

La précision de la technique fluorimétrique est satisfaisante avec des CV np inférieur à 15%, 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 21 et 16 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*	CV np (%)
14DNN1	P141	-	Tous réactifs	62	381,1	13,1
		QU	Bio-Rad	6	364,2	1,2
		6X	manuelle	56	386,6	14,1
14DNN2	P142	-	Tous réactifs	61	190,0	12,0
		QU	Bio-Rad	4	157,6	15,8
		6X	manuelle	57	193,0	11,7

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

tableau VI : récapitulatif des interprétations données lors des opérations 14DNN1 et 14DNN2 pour le dépistage de la PCU.

Opération	Echantillon	Médiane* ($\mu\text{mol/L}$)	Interprétation consensus	Nbre de laboratoires en accord avec le consensus
14DNN1	P141	381,1	Résultat pathologique	21 / 21
14DNN2	P142	190,0	Résultat pathologique	16 / 21

* 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 5 : diagramme « boîte et moustaches » pour la phénylalanine lors de l'opération 14DNN1 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.

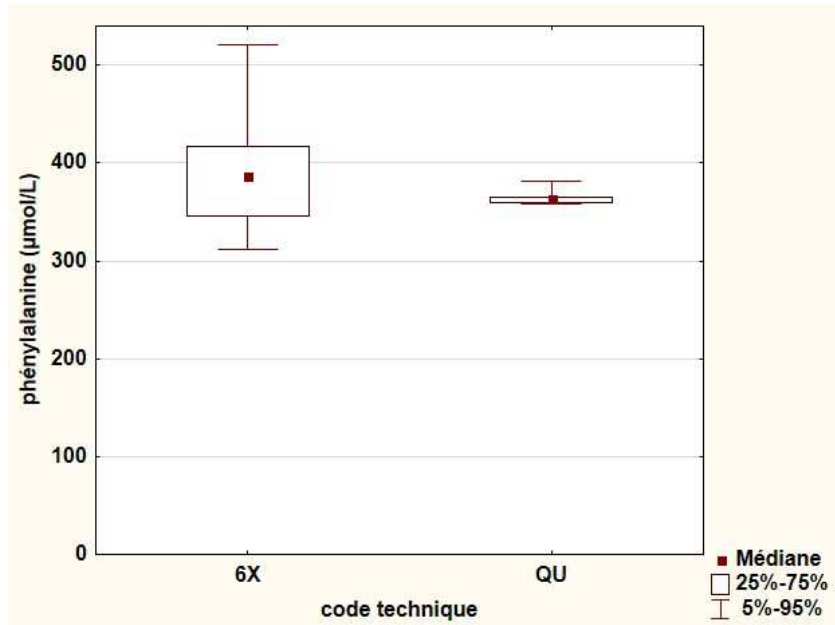
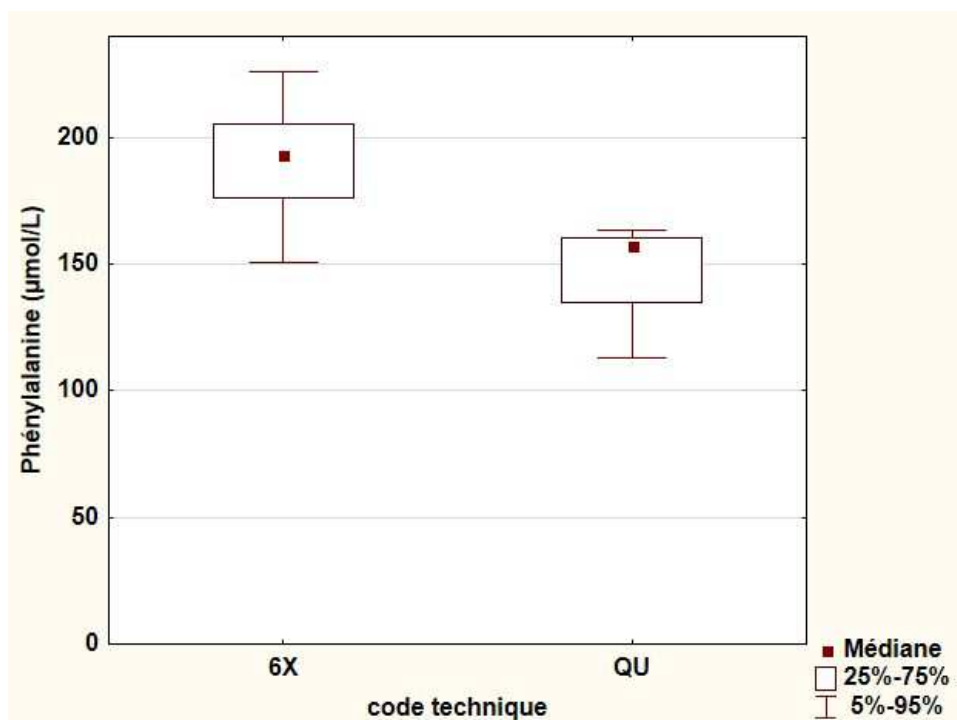


figure 6 : diagramme « boîte et moustaches » pour la phénylalanine lors de l'opération 14DNN2 en fonction du réactif utilisé.
 Chaque rectangle représente l'espace interquartile (percentile 75 – percentile 25) avec la position de la médiane (point), les traits inférieurs et supérieurs positionnent le 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 7.

Trois trousse de dosage ont été utilisées par les laboratoires. Cinq laboratoires ont utilisé la trousse RIA-gnost Trypsin neonatal Cis bio et douze laboratoires, la trousse Delfia/Autodelfia IRT Perkin Elmer. Quatre laboratoires ont utilisé la trousse GSP Perkin Elmer. Les résultats des automates Perkin Elmer (AutoDelfia et GSP) ont été regroupés pour les calculs statistiques (pas de différence statistique).

En 2014, les 2 échantillons envoyés (M141 et M142) 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 2014 (figure 7). Toutefois, l'écart tend à s'accroître (M141 – écart 32,1% vs M142 – écart 36,9%).

La médiane des résultats se situe dans une zone proche du seuil d'action. Dans cette zone, la précision intra-technique inter-laboratoire des 2 trousse (CV_{np}) est satisfaisante, toujours inférieure à 10%.

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 des opérations 2014, l'écart entre la médiane des résultats obtenus avec la trousse Cis bio et la médiane des résultats obtenus avec les trousse Perkin Elmer est compris entre 32% et 37%. Cet écart est stable depuis 2013.

Une interprétation des résultats obtenus était demandée. L'interprétation finale des résultats par les biologistes est donnée dans le tableau VIII. Dans cette zone proche du seuil et compte-tenu de l'écart inter-technique, la conclusion dépend clairement du réactif utilisé : les utilisateurs Perkin Elmer ont majoritairement rendu « résultat normal » et les utilisateurs Cis bio « 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*	CV np (%)
14DNN1	M141	-	Tous réactifs	55	58,5	19,0
		AN	IBA Cis bio	15	74,9	6,9
		KC/KP	Perkin Elmer	40	56,7	7,9
14DNN2	M142	-	Tous réactifs	51	57,2	21,4
		AN	IBA Cis bio	15	76,0	7,4
		KC	Perkin Elmer	36	55,5	7,1

* exprimé en µg/L de sang total

tableau VIII : récapitulatif des interprétations données lors des opérations 14DNN1 et 14DNN2 pour la TIR.

Opération	Echantillon	Médiane* (µg/L)	Interprétation consensus	Nb de laboratoires en accord avec le consensus
14DNN1	M141	58,5	Pas d'interprétation consensus toutes techniques**	-
14DNN2	M142	57,2	Pas d'interprétation consensus toutes techniques**	-

* médiane tous réactifs

**l'interprétation dépend de la trousse utilisée.

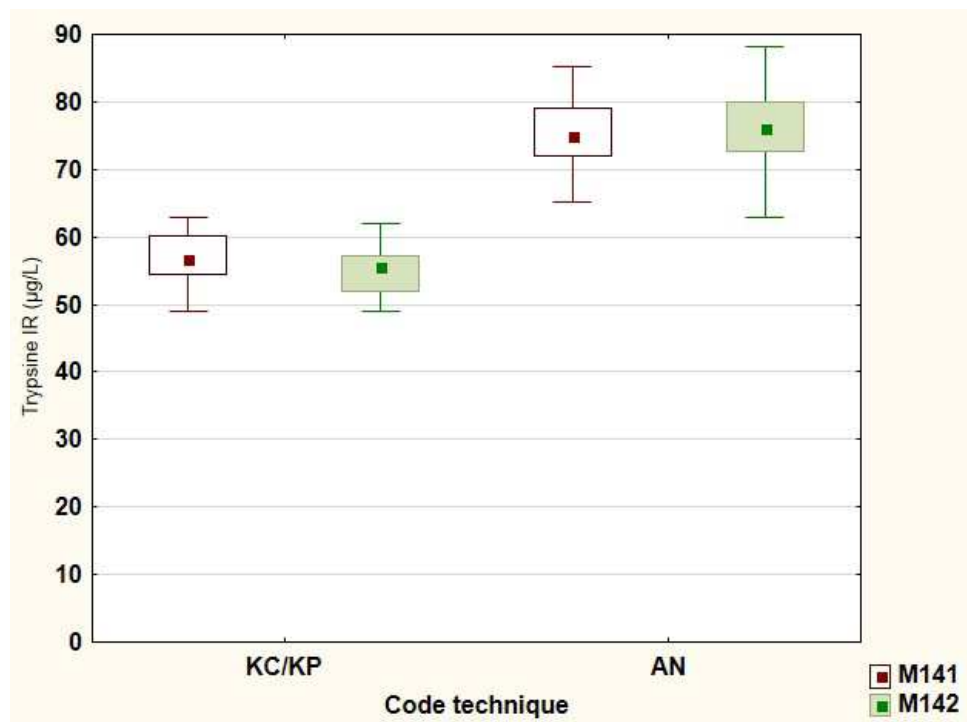
NB: les seuils recommandés par l'AFDPHE sont

- avec les techniques [A N] 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.

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 14DNN1 et 14DNN2 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 une technique séparative (électrophorèse ou CHLP) de la présence de variants anormaux de l'hémoglobine.

En 2014, pour la première fois les opérations CNQ dépistage néonatal ont permis de contrôler l'activité dépistage de la drépanocytose.

Les principaux résultats concernant le dépistage de la drépanocytose sont donnés dans le tableau IX. Les résultats sont très satisfaisants. Pour chaque échantillon, les cinq laboratoires ont rendu les mêmes résultats et 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 une 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 et conclusions obtenus pour le dépistage de la drépanocytose.

Opération	Echantillon	Fractions d'Hb identifiées	Conclusion	Nb de laboratoires en accord avec la conclusion
14DNN1	D141	HbF / HbS	Forte suspicion d'un syndrome drépanocytaire majeur	5/5
	D142	HbF / HbA	Résultat normal	5/5
14DNN2	D143	HbF / HbA / HbS	Enfant hétérozygote AS	5/5
	D144	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 sur agar pH acide	0	0
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-progesterone, phénylalanine et trypsine IR ont été évalués au regard des limites acceptables définies dans le tableau XI. Pour la première fois en 2014, le résultat du dosage initial et la valeur prise en 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 2014.

	Echantillons							
	T141	T142	H141	H142	P141	P142	M141	M142
TSH	25%	20%						
17 OH-progesterone			20%	20%				
Phénylalanine					25%	30%		
Trypsine IR							20%	20%

tableau XII – pourcentage de « bons résultats » évalués en A ou en B en 2014.

	14DNN1	14DNN2
TSH	95,1% (39 / 41)	100% (42 / 42 laboratoires)
17 OH-progesterone	100% (41 / 41)	88,0% (37 / 42 laboratoires)
Phénylalanine	95,1% (39 / 41)	97,6% (40 / 41 laboratoires)
Trypsine IR	100% (41 / 41)	100% (36 / 36 laboratoires)

Commentaires sur les résultats

1 - TSH

Suite à la re-standardisation en juin 2007 du réactif Cis bio sur le standard ISNS, l'écart entre les trousse Cis bio et Perkin Elmer s'était resserré. Cependant, depuis 2009, les résultats du Contrôle National de Qualité objectivent un accroissement de l'écart inter-technique.

Les deux fabricants ont 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 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 trousse. 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 juillet 2015.

2 - 17OH-progestérone

L'écart inter-technique observé lors des opérations du CNQ est en partie expliqué par la sous-estimation du 3^e standard ISNS de 17 OH-progestérone par 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 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 ».

3 - Phénylalanine

Pour la grande majorité des laboratoires le dosage de phénylalanine est 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 (11,9%) est comparable à celui obtenu par la technique Bio-Rad Quantase (10,4%).

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 2014 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%.

5 – Dépistage de la drépanocytose

Les résultats obtenus pour cette première opération sont très satisfaisants.

Conclusion

Les résultats obtenus lors des opérations du contrôle national de qualité « dépistage néonatal 2014 » 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, un écart inter-technique minime a été constaté.

Pour la TSH, les résultats confirment une stabilisation de l'écart inter-technique. 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.

Pour le dépistage de la drépanocytose, les résultats obtenus lors de cette première opération 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.