

Annales du Contrôle National de Qualité des Analyses de Biologie Médicale

Dépistage néonatal :
hypothyroïdie (TSH)
hyperplasie des surrénales (17 OH-progesterone)
phénylcétonurie (phénylalanine)

Michèle NOEL (Afssaps, Saint-Denis)
Jean-Louis DHONDT (CH St Philibert, Lomme)

	04DNN1	04DNN2
Expédition	16/06/04	10/11/04
Clôture	5/07/04	6/12/04
Edition des compte-rendus individuels	4/10/04	12/01/04
Paramètres contrôlés : Echantillons	Phénylalanine : P411, P412, P413, P414 17OH-Progestérone : H411, H412, H413, H414 TSH : T411, T412, T413, T414	Phénylalanine : P421, P422, P423 17OH-Progestérone : H421, H422, H423 TSH : T421, T422, T423
Nombre de laboratoires concernés*	27	27
Nombre de laboratoires participants**	27	27

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

**Laboratoires ayant retourné un bordereau-réponse correctement identifié par le code laboratoire, avant la date de clôture de l'opération

Résumé des opérations de l'année 2004

Le dépistage néonatal consiste à repérer dans une population, en l'absence de tout risque individuel identifié, les nouveau-nés susceptibles de développer une maladie. Actuellement, 5 maladies font l'objet d'un dépistage au niveau national : phénylcétonurie (PCU), hypothyroïdie congénitale (HC), hyperplasie congénitale des surrénales (HCS), déranocytose (HbS) et depuis peu mucoviscidose (CF). Les trois paramètres permettant le dépistage de la PCU (phénylalanine), de l'HC (TSH) et de l'HCS (17 OH-progestérone) ont été contrôlés en 2004 lors de 2 opérations.

Au total 27 laboratoires étaient concernés, selon l'activité déclarée (dépistage PCU et/ou dépistage HC et HCS), les laboratoires ont reçu les échantillons pour dosage de la phénylalanine et /ou les échantillons pour dosage de la TSH et de la 17OH-progestérone.

Des échantillons provenant d'un même lot de production, ont été envoyés successivement lors des 2 opérations permettant d'objectiver la reproductibilité des résultats.

Les résultats observés sont globalement satisfaisants : participation maximale des laboratoires au contrôle national de qualité, arbre décisionnel identique, utilisation de techniques présentant une précision suffisante. Il faut toutefois noter que pour la TSH et la 17OH-Progestérone, les résultats sont clairement dépendants du réactif.

Définition de l'échantillon

Les échantillons envoyés sont des taches de sang séché d'origine humaine déposées sur papier Schleicher et Shüll 2992. Le sang utilisé pour fabriquer les échantillons est ajusté à l'hématocrite d'un sang de nouveau-né.

Pour chaque niveau de concentration, trois taches de sang séché sont fournies afin que la procédure analytique puisse être identique à celle utilisée pour un prélèvement de nouveau-né.

Traitement 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, toutes techniques confondues ainsi que la médiane pour la technique utilisée. Cette dernière n'est calculée que si l'effectif est suffisant ($n \geq 4$).
- Calcul des paramètres estimant la dispersion : coefficient de variation tronqué (CV Tr) et espace interquartile. Le CV Tr (écart-type / moyenne exprimé en %) est calculé après une troncature à 2 écarts-types, c'est à dire après élimination des valeurs extrêmes en dehors de la moyenne ± 2 écarts-types, si l'effectif est suffisant ($n \geq 10$). L'espace interquartile représente l'intervalle centré sur la médiane qui comprend 50% de l'ensemble des données. Seul le CV Tr sera donné dans les tableaux de résultats. La moyenne tronquée (mTr) qui a permis de calculer le CV Tr est également donnée.
- Comparaison des résultats par le test d'analyse des variances (Anova) simple ou à 2 facteurs. Les résultats sont significativement différents si $p < 0,05$.

Résultats des participants

17OH-Progesterone

Les principaux résultats concernant le dosage de la 17 OH-Progesterone dans le cadre du dépistage néonatal sont donnés dans les tableaux I.

Deux trousse de dosage ont été utilisées par les laboratoires. Ce sont des techniques immunochimiques utilisant soit un marqueur isotopique, trousse Schering Cis bio international (AN) soit un marqueur fluorimétrique, trousse Perkin Elmer (KC). Dix laboratoires utilisent la trousse Schering Cis bio international Cis bio (45%) et douze laboratoires, la trousse Perkin Elmer (55%).

Globalement la précision de chaque technique est convenable quel que soit le niveau des échantillons testés. Ainsi les CV Tr sont majoritairement inférieurs à 10%. De plus les 2 techniques ont des caractéristiques analytiques équivalentes : CV Tr moyen de 9,6% pour la trousse Schering Cis bio international et de 9,1% pour la trousse Perkin Elmer. Les paramètres de dispersion non paramétriques (espace interquartile) donnent des indications semblables.

Les résultats obtenus pour les 7 échantillons en fonction de la technique utilisée sont illustrés dans les figures 1 et 2. Les résultats obtenus pour 6 échantillons sur 7 diffèrent significativement selon la technique utilisée. L'écart de résultats entre les 2 techniques est compris entre 10 à 40% selon le niveau de l'échantillon étudié, la trousse Schering Cis bio international donne systématiquement des résultats plus élevés que la trousse Perkin Elmer.

Certains échantillons provenaient d'un même lot de production, il en est ainsi des échantillons H413 et H422, et des échantillons H414 et H421 (Tableau II). Pour ces échantillons provenant d'un même lot mais dosés successivement lors des 2 opérations, les résultats sont équivalents (Figure 3), montrant ainsi la bonne stabilité des résultats obtenus au cours de l'année 2004 tant au niveau individuel qu'au niveau des réactifs.

Une interprétation des résultats obtenus était demandée, les interprétations suivantes pouvaient être données au vu du premier résultat : « résultat normal » si le résultat est inférieur à un seuil de vérification appelé seuil d'alerte ou « confirmation du premier résultat par un second dosage » si le résultat est supérieur au seuil d'alerte ; au vu des seconds résultats : « résultat normal » pour un résultat inférieur au seuil à un second seuil dit seuil d'action ou « résultats pathologiques » si le résultat dépasse le seuil d'action. L'interprétation finale des résultats par les biologistes (tableau III) est satisfaisante, même lorsque celle-ci est en désaccord avec l'interprétation consensus, elle reste logique en regard du résultat obtenu par le laboratoire.

Tableau I – Résultats obtenus pour la 17OH-Progestérone (résultats exprimés en nmol/l de sang total)

Opération	Echantillon	Code	Fabricant	n	Médiane*	mTr*	CV Tr (%)
04DNN1	H411	-	Ttes techniques	44	64,7	66,1	13,9
		AN	Schering	20	75,5	73,2	10,4
		KC	Perkin Elmer	24	61,0	60,3	9,6
	H4212	-	Ttes techniques	31	46,2	46,9	13,6
		AN	Schering	17	53,4	52,9	13,7
		KC	Perkin Elmer	14	42,4	42,3	6,2
	H413	-	Ttes techniques	44	93,1	96,9	15,7
		AN	Schering	20	113,6	114,6	7,1
		KC	Perkin Elmer	24	86,9	86,2	9,1
	H414	-	Ttes techniques	44	124,2	126,3	18,0
		AN	Schering	20	150,0	148,9	6,8
		KC	Perkin Elmer	24	107,5	108,4	9,7
04DNN2	H421	-	Ttes techniques	44	120,6	118,3	19,3
		AN	Schering	20	138,0	139,3	9,0
		KC	Perkin Elmer	24	98,6	100,2	11,5
	H422	-	Ttes techniques	44	90,2	93,5	17,3
		AN	Schering	20	109,0	109,0	7,7
		KC	Perkin Elmer	24	80,0	80,7	8,8
	H423	-	Ttes techniques	22	21,7	21,7	10,1
		AN	Schering	10	23,0	23	12,4
		KC	Perkin Elmer	12	20,8	21,2	9,3

* exprimé en nmol/l

Tableau II : Récapitulatif des échantillons envoyés lors des opérations 04DNN1 et 04DNN2.

	Echantillons	
	04DNN1	04DNN2
Lot K		H423
Lot L	H412	
Lot M	H411	
Lot N	H413	H422
Lot O	H414	H421

Tableau III – Récapitulatif des interprétations données lors des opérations 04DNN1 et 04DNN2 pour le dépistage de l'HCS.

Opération	Echantillon	Interprétation consensus	Nbre de laboratoires en accord avec le consensus
04DNN1	H411	Résultat pathologique	20 / 22
	H412	Résultat normal	21 / 22
	H413	Résultat pathologique	22 / 22
	H414	Résultat pathologique	22 / 22
04DNN2	H421	Résultat pathologique	22 / 22
	H422	Résultat pathologique	22 / 22
	H423	Résultat normal	22 / 22

NB: les seuils recommandés par l'Association Française pour le Dépistage et la Prévention des Handicaps de l'Enfant (AFDPHE) sont 50 nmol/l pour le seuil d'alerte (contrôle du résultat en duplicate) et 60 nmol/l pour le seuil d'action (demande d'un second prélèvement ou convocation du nouveau-né)

Figure 1 : Diagramme « boîte et moustaches » des résultats obtenus pour la 17 OH-progesterone lors de l'opération 04DNN1 en fonction du réactif utilisé. La « boîte » représente l'espace interquartile (percentile 75 – percentile 25) avec la médiane (point), les « moustaches » positionnent les valeurs maximales et minimales obtenues.

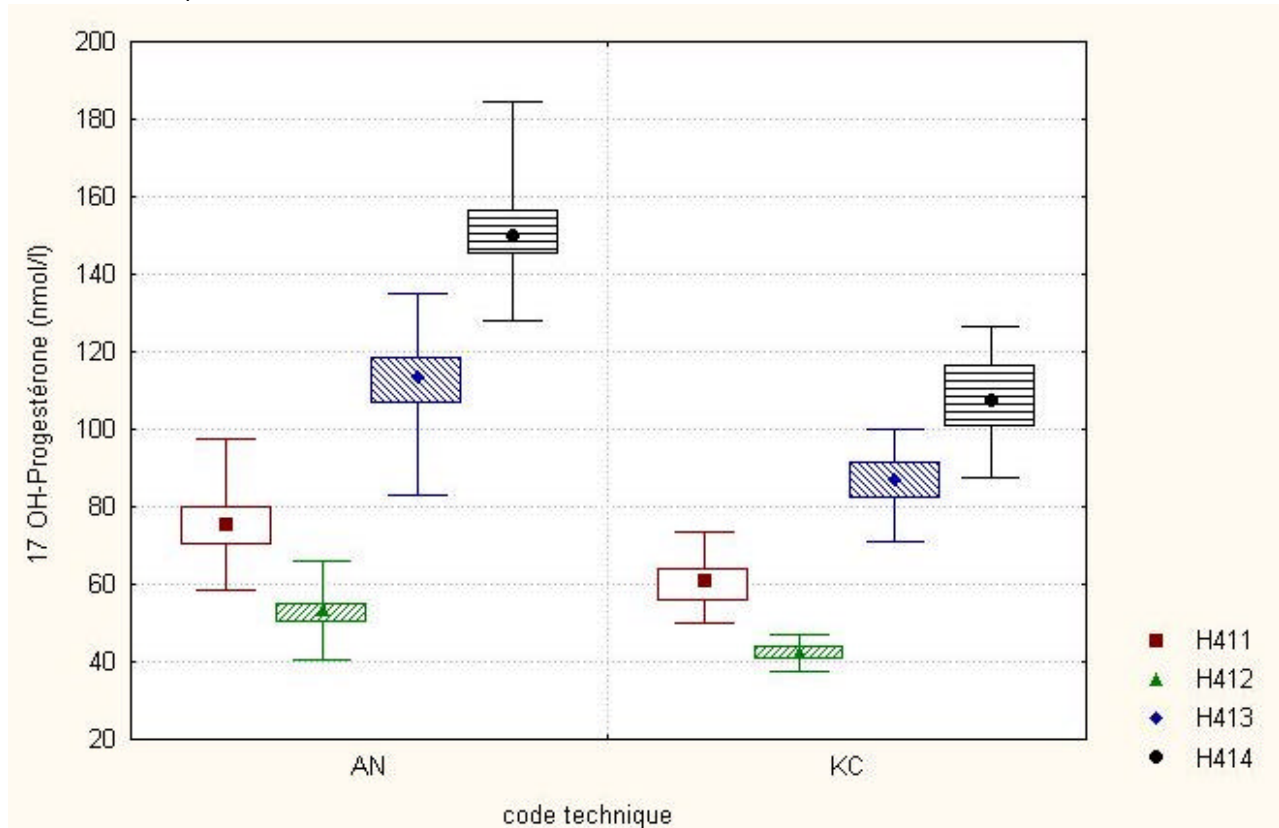


Figure 2 : Diagramme « boîte et moustaches » des résultats obtenus pour la 17 OH-Progesterone lors de l'opération 04DNN2 en fonction du réactif utilisé. La « boîte » représente l'espace interquartile (percentile 75 – percentile 25) ainsi que la position de la médiane (point), les « moustaches » positionnent les valeurs maximales et minimales obtenues.

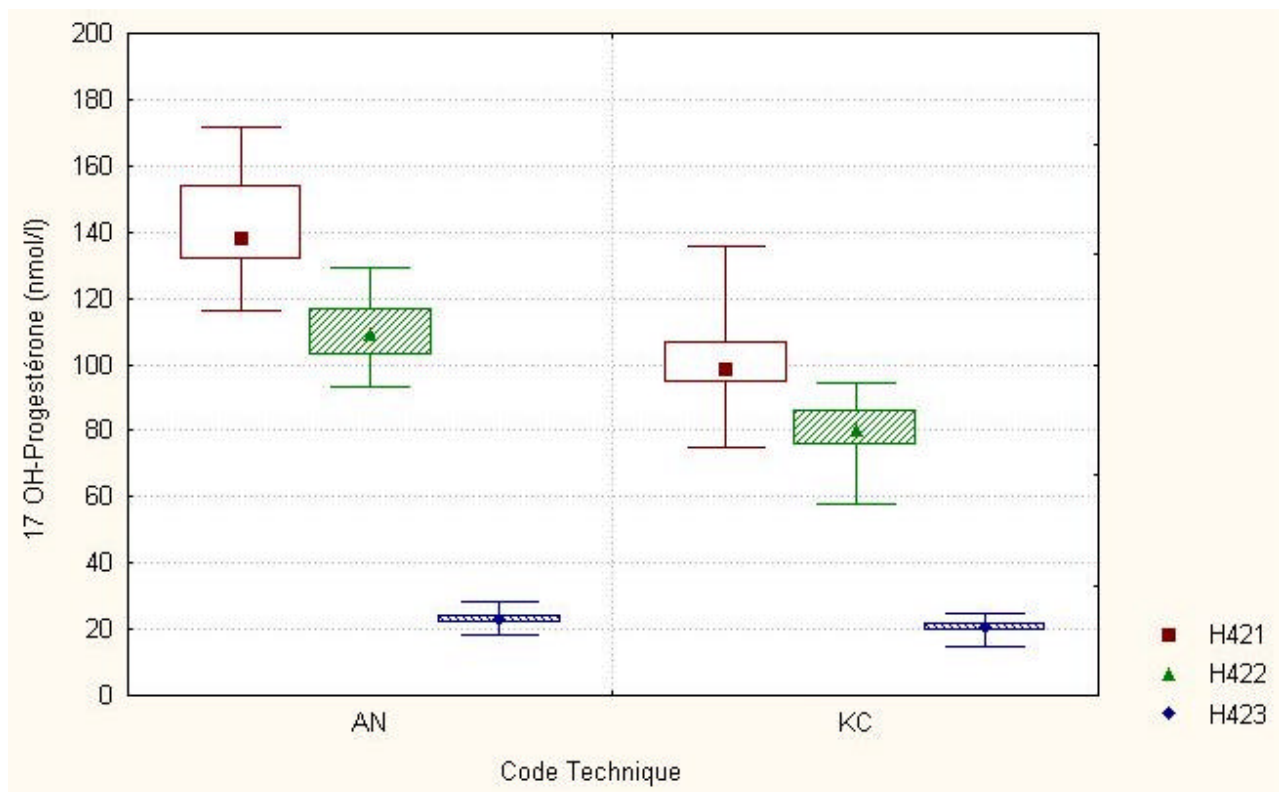
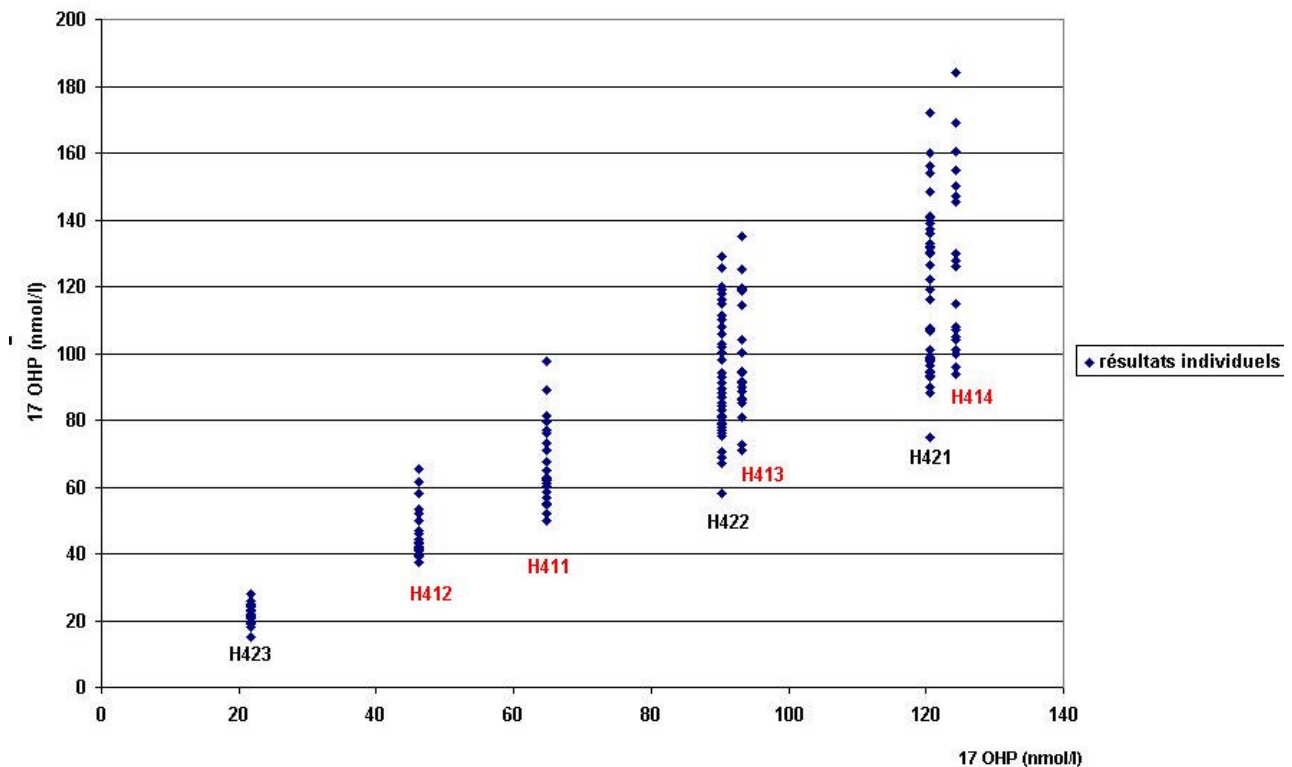


Figure 3 : Récapitulatif des résultats individuels obtenus pour la 17OH-Progestérone lors des opérations 04DNN1 et 04DNN2. Les échantillons H413 et H422 ainsi que les échantillons H414 et H421 proviennent d'un même lot. En abscisse les échantillons sont placés sur la valeur cible consensus (médiane toutes techniques).



TSH

Les principaux résultats concernant le dosage de la TSH sur sang séché sont donnés dans le tableau IV. De façon similaire, deux trousse de dosage ont été utilisées par les laboratoires pour le dosage de la TSH sur sang séché. Dix laboratoires utilisent la trousse Schering Cis bio international, AN (45%), technique immunochimique utilisant un marqueur isotopique et douze laboratoires, la trousse Perkin Elmer, KC (55%), technique utilisant un marqueur fluorimétrique.

La précision de chaque technique est convenable dans les zones d'intérêt pour le dépistage de l'HC (entre 20 et 60 mUI/l) avec des CV Tr généralement compris entre 6 et 12%. En revanche, pour les échantillons de faible concentration (T411 et T422), la précision est moindre (CV Tr allant jusqu'à 30%) surtout pour la technique manuelle (AN).

Les résultats obtenus pour les 7 échantillons en fonction de la technique utilisée sont illustrés dans les figures 4 et 5. Quel que soit le niveau de concentration des échantillons, les résultats diffèrent significativement selon la technique utilisée. La trousse Schering Cis bio international (AN) donne systématiquement des résultats plus élevés que la trousse Perkin Elmer (KC). L'écart entre les deux est compris entre 52 et 97% selon le niveau de l'échantillon étudié.

Le tableau V récapitule la provenance des échantillons envoyés lors des 2 opérations. Les échantillons T413, T414 et T423 provenaient d'un même lot. Pour les échantillons provenant du même lot mais dosés successivement lors des 2 opérations, les résultats diffèrent (figure 6), ainsi pour la trousse Schering Cis bio international (AN) les résultats obtenus lors du second contrôle (T423) sont significativement augmentés par rapport aux résultats obtenus lors du premier contrôle (T413 et T414).

Enfin, l'interprétation des résultats par les biologistes (tableau VI) est satisfaisante.

Tableau IV – Résultats obtenus pour la TSH (résultats exprimés en mUI/l de sang total)

Opération	Echantillon	Code	Fabricant	n	Médiane *	mTr *	CV Tr (%)
04DNN1	T411	-	Ttes techniques	24	8,0	9,2	27,2
		AN	Schering	11	12,4	11,7	15,1
		KC	Perkin Elmer	13	7,3	7,3	6,2
	T4212	-	Ttes techniques	44	52,2	58,2	25,8
		AN	Schering	20	71,7	74,4	11,5
		KC	Perkin Elmer	24	46,2	45,7	8,2
	T413	-	Ttes techniques	44	57,3	64,2	26,1
		AN	Schering	20	82,8	83,5	5,6
		KC	Perkin Elmer	24	50,7	50,2	10,6
	T414	-	Ttes techniques	44	58,3	64,3	24,6
		AN	Schering	20	79,3	80,1	11,7
		KC	Perkin Elmer	24	52,2	52,4	7,8
04DNN2	T421	-	Ttes techniques	44	24,1	28,3	28,2
		AN	Schering	20	36,5	36,3	14,6
		KC	Perkin Elmer	24	21,8	21,9	6,2
	T422	-	Ttes techniques	22	3,7	4,4	41,8
		AN	Schering	10	6,9	6,3	30,5
		KC	Perkin Elmer	12	3,5	3,2	16,7
	T423	-	Ttes techniques	44	64,3	68,7	26,8
		AN	Schering	20	87,9	87,6	6,3
		KC	Perkin Elmer	24	51,7	52,2	10,6

* exprimé en mUI/

Tableau V : Récapitulatif des échantillons envoyés lors des opérations 04DNN1 et 04DNN2.

	Echantillons	
	04DNN1	04DNN2
Lot F		T422
Lot G	T411	
Lot H		T421
Lot I	T412	
Lot J	T413 et T414	T423

Tableau VI – Récapitulatif des interprétations données lors des opérations 04DNN1 et 04DNN2 pour le dépistage de l'HC.

Opération	Echantillon	Interprétation consensus	Nbre de laboratoires en accord avec le consensus
04DNN1	T411	Résultat normal	22 / 22
	T412	Résultat pathologique	22 / 22
	T413	Résultat pathologique	22 / 22
	T414	Résultat pathologique	22 / 22
04DNN2	T421	Résultat pathologique	21 / 22
	T422	Résultat normal	22 / 22
	T423	Résultat pathologique	22 / 22

NB: les seuils recommandés par l'AFDPHE sont

- avec la technique AN : 20 mUI/l pour le seuil d'alerte 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 d'alerte et 20 mUI/l pour le seuil d'action

Figure 4 : Diagramme «boite et moustaches» des résultats obtenus pour la TSH lors de l'opération 04DNN1 en fonction du réactif utilisé. Les résultats provenant des échantillons T413 et T414 (même lot) sont représentés en commun. La «boite» représente l'espace interquartile (percentile 75 – percentile 25) avec la médiane (point), les «moustaches» positionnent les valeurs maximales et minimales obtenues.

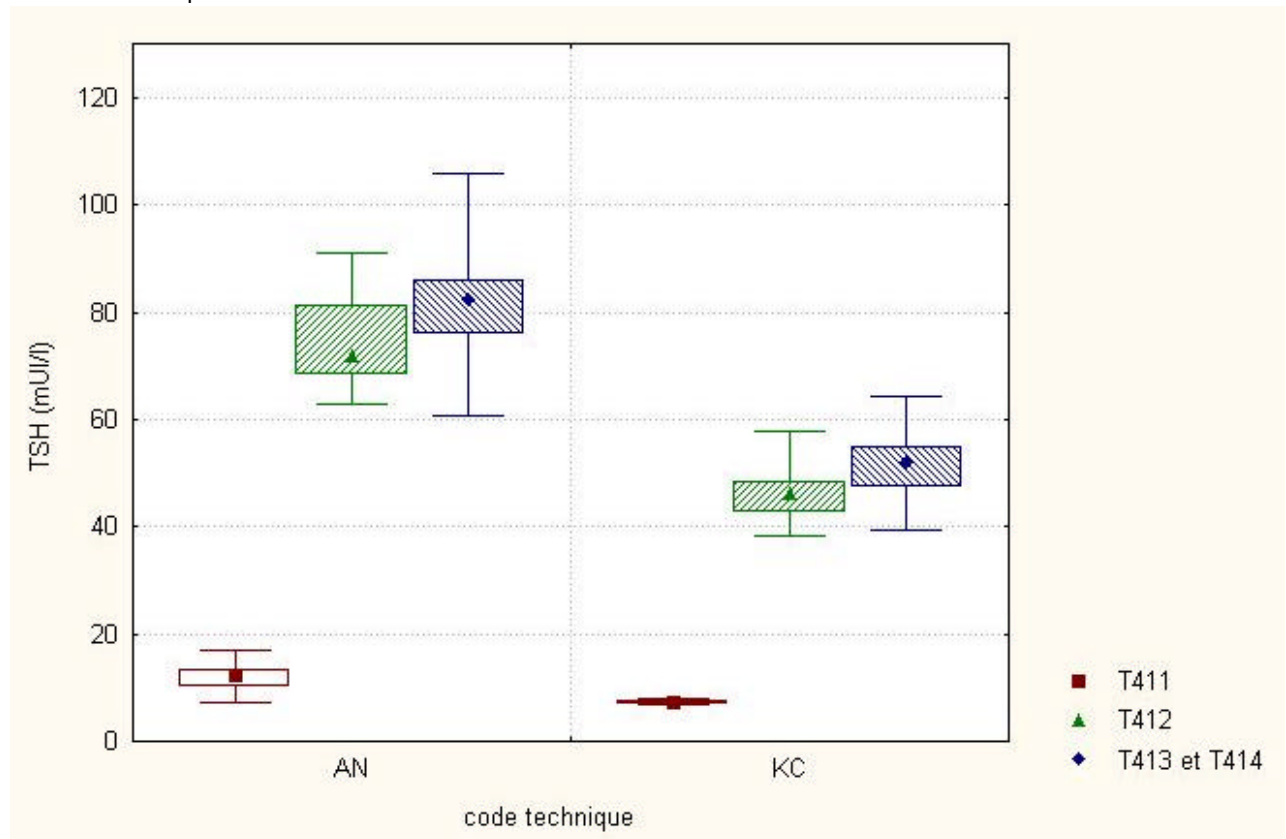


Figure 5 : Diagramme «boite et moustaches» des résultats obtenus pour la TSH lors de l'opération 04DNN2 en fonction du réactif utilisé. La «boite» représente l'espace interquartile (percentile 75 – percentile 25) avec la position de la médiane (point), les «moustaches» positionnent les valeurs maximales et minimales obtenues.

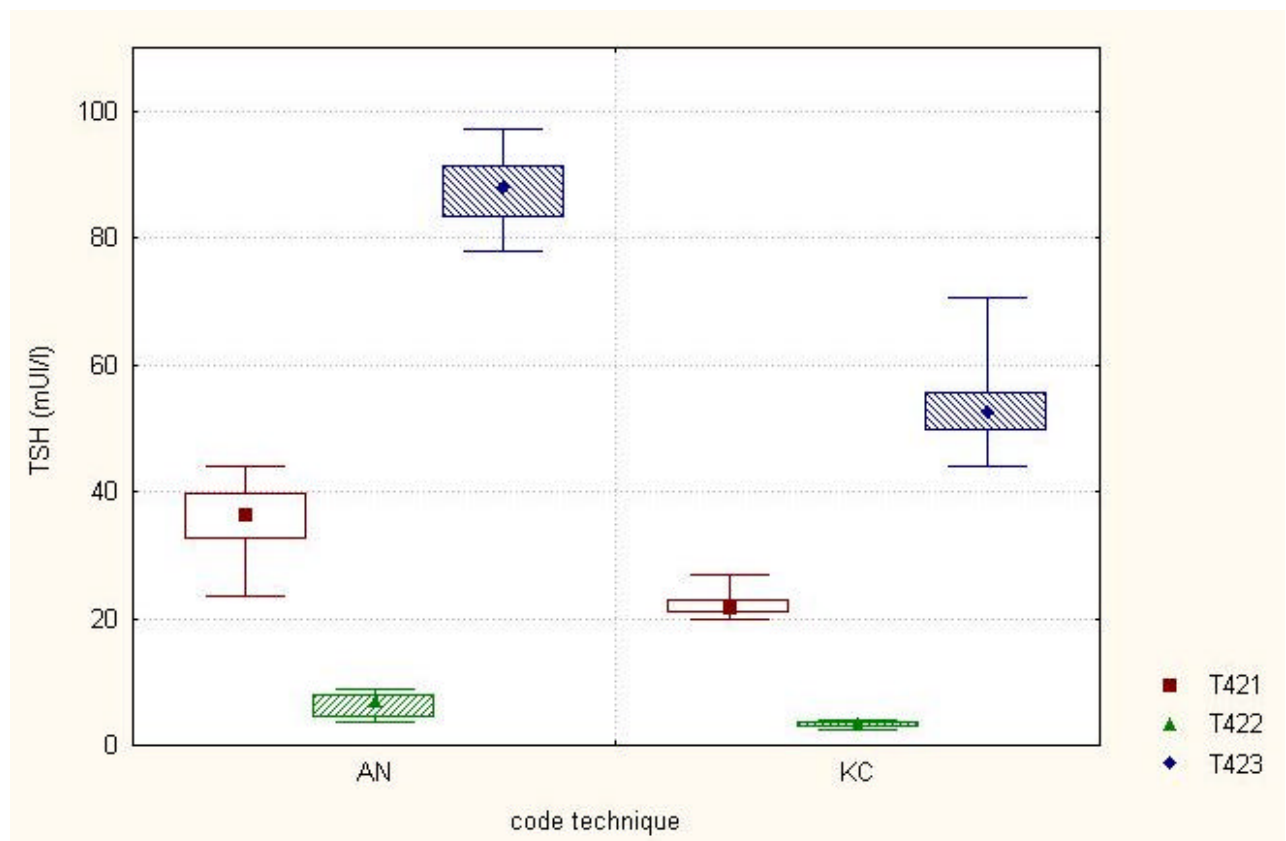
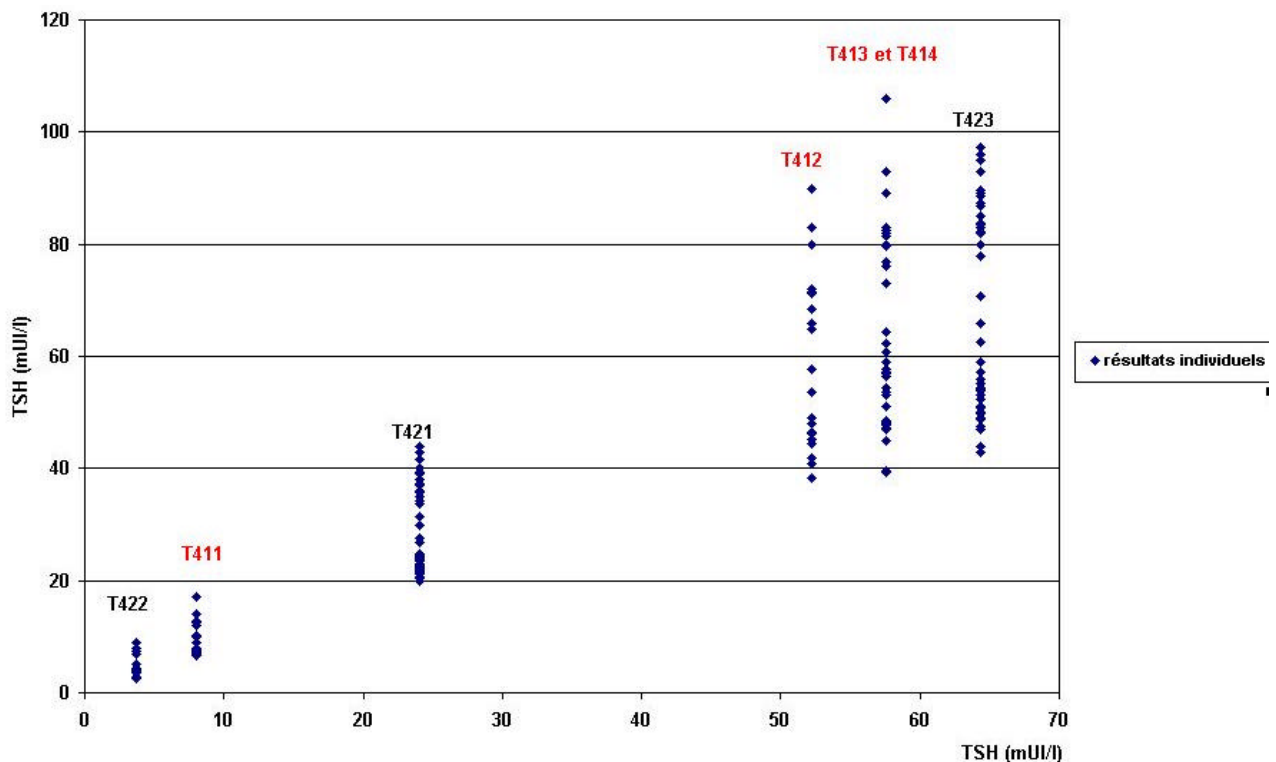


Figure 6 : Récapitulatif des résultats individuels obtenus pour la TSH lors des opérations 04DNN1 et 04DNN2. Les résultats provenant des échantillons T413 et T414 sont représentés en commun. Les échantillons T413, T414 et T423 proviennent d'un même lot. En abscisse les échantillons sont placés sur la valeur cible consensus (médiane toutes techniques).



Phénylalanine

Les principaux résultats concernant le dosage de la phénylalanine sur sang séché sont donnés dans le tableau VII.

Deux techniques de dosage ont été utilisées par les laboratoires. La grande majorité des laboratoires (16) dosent la phénylalanine grâce à une technique fluorimétrique (6X). La trousse Bio Rad (QU), qui est une méthode enzymatique colorimétrique, est utilisée systématiquement par 4 laboratoires et seulement pour contrôler les résultats du premier dosage par 2 autres laboratoires.

La précision de chaque technique est correcte avec des CV Tr généralement inférieurs à 15% à l'exception de l'échantillon de faible concentration (P414), pour lequel la précision est moins bonne (CV Tr entre 15 et 20%).

Les résultats obtenus pour les 7 échantillons en fonction de la technique utilisée sont illustrés dans les figures 7 et 8. Quels que soient le niveau de concentration des échantillons et la technique utilisée, les résultats sont identiques.

Un récapitulatif des échantillons envoyés lors des 2 opérations est donné dans le tableau VIII. Les résultats obtenus pour les échantillons provenant d'un même lot mais dosés successivement lors des 2 opérations (P414 et P421 d'une part, P413 et P422 d'autre part), ne diffèrent pas (Figure 9).

L'interprétation des résultats par les biologistes (tableau IX) est satisfaisante. Toutefois, pour ce paramètre il faut noter qu'une partie des résultats discordants est liée à l'utilisation par les laboratoires de seuils décisionnels légèrement différents du seuil consensuel recommandé par l'AFDPHE.

Tableau VII – Résultats obtenus pour la phénylalanine (résultats exprimés en $\mu\text{mol/l}$ de sang total)

Opération	Echantillon	Code	Fabricant	n	Médiane *	mTr *	CV Tr (%)
04DNN1	P411	-	Ttes techniques	44	571,9	505,1	14,4
		QU	Bio Rad	10	602,4	652,1	14,5
		6X	manuelle	34	564,1	576,2	12,9
	P4212	-	Ttes techniques	44	353,9	367,9	13,3
		QU	Bio Rad	10	378,8	398,6	13,6
		6X	manuelle	34	350,4	357,6	12
	P413	-	Ttes techniques	44	236,5	249,8	15,1
		QU	Bio Rad	10	254,0	273,7	17,2
		6X	manuelle	34	234,4	241,8	12,8
	P414	-	Ttes techniques	28	115,9	125,3	17,6
		QU	Bio Rad	7	155,8	N.C. **	N.C. **
		6X	manuelle	21	115,0	119,5	14,3
04DNN2	P421	-	Ttes techniques	25	114,9	118,5	16,3
		QU	Bio Rad	5	101,6	N.C. **	N.C. **
		6X	manuelle	20	121,7	121,7	16,5
	P422	-	Ttes techniques	44	218,7	220,4	9,3
		QU	Bio Rad	10	213,3	220,4	6,8
		6X	manuelle	34	219,8	213,3	10,6
	P423	-	Ttes techniques	44	423,5	219,8	11,3
		QU	Bio Rad	10	425,0	423,2	8,2
		6X	manuelle	34	423,5	423,5	12,2

*exprimé en $\mu\text{mol/l}$

** non calculé

Tableau VIII : Récapitulatif des échantillons envoyés lors des opérations 04DNN1 et 04DNN2.

	Echantillons	
	04DNN1	04DNN2
Lot A	P414	P421
Lot B	P413	
Lot C	P412	P422
Lot D		
Lot E	P411	P423

Tableau VII – Récapitulatif des interprétations données lors des opérations 04DNN1 et 04DNN2 pour le dépistage de la PCU.

Opération	Echantillon	Interprétation consensus	Nbre de laboratoires en accord avec le consensus
04DNN1	P411	Résultat pathologique	22 / 22
	P412	Résultat pathologique	22 / 22
	P413	Résultat pathologique	22 / 22
	P414	Résultat normal	20 / 21 *
04DNN2	P421	Résultat normal	21 / 22
	P422	Résultat pathologique	20 / 22
	P423	Résultat pathologique	22 / 22

* un laboratoire n'a pas donné de conclusion

NB: les seuils recommandés par l'AFDPHE sont 150 $\mu\text{mol/l}$ pour le seuil d'alerte (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 7 : Diagramme « boîte et moustaches » des résultats obtenus pour la phénylalanine lors de l'opération 04DNN1 en fonction du réactif utilisé. La « boîte » représente l'espace interquartile (percentile 75 – percentile 25) avec la médiane (point), les « moustaches » positionnent les valeurs maximales et minimales obtenues.

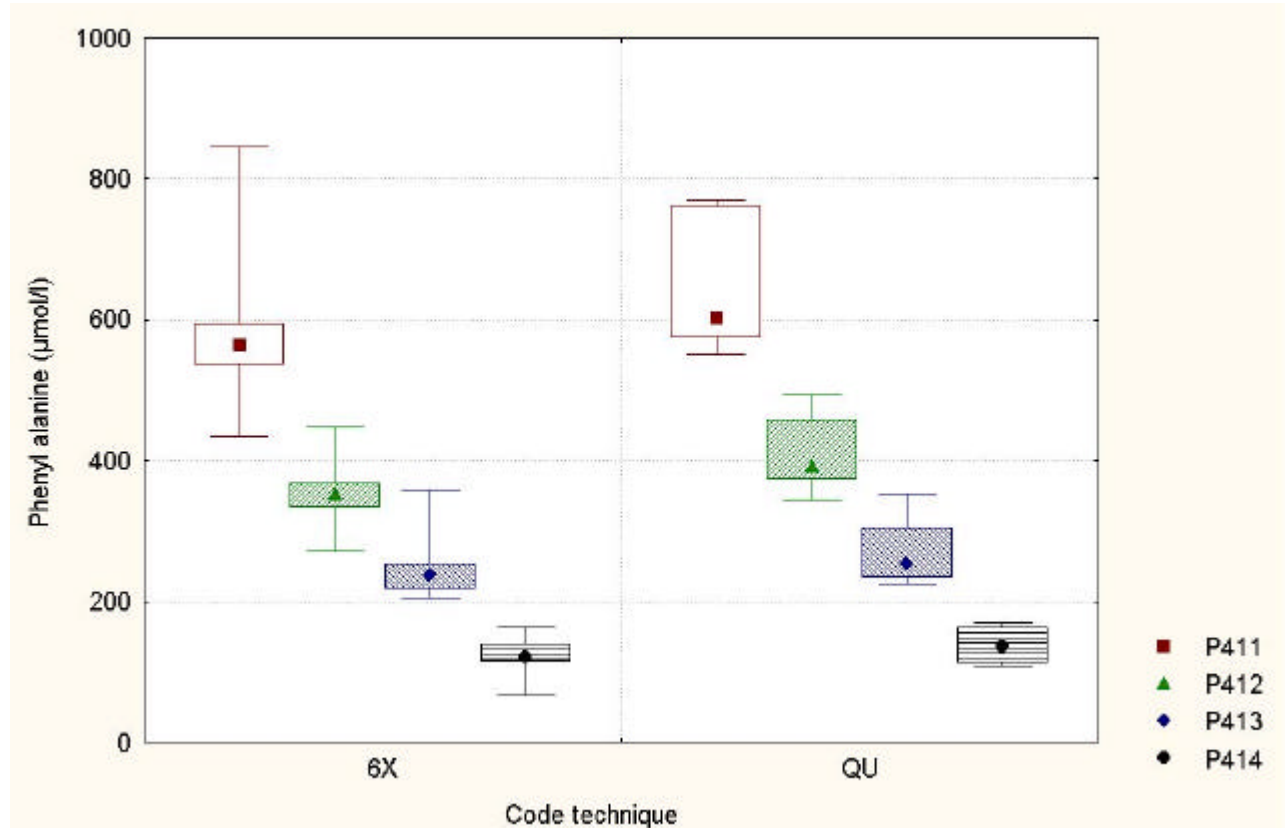


Figure 8 : Diagramme « boîte et moustaches » des résultats obtenus pour la phénylalanine lors de l'opération 04DNN2 en fonction du réactif utilisé. La « boîte » représente l'espace interquartile (percentile 75 – percentile 25) avec la position de la médiane (point), les « moustaches » positionnent les valeurs maximales et minimales obtenues.

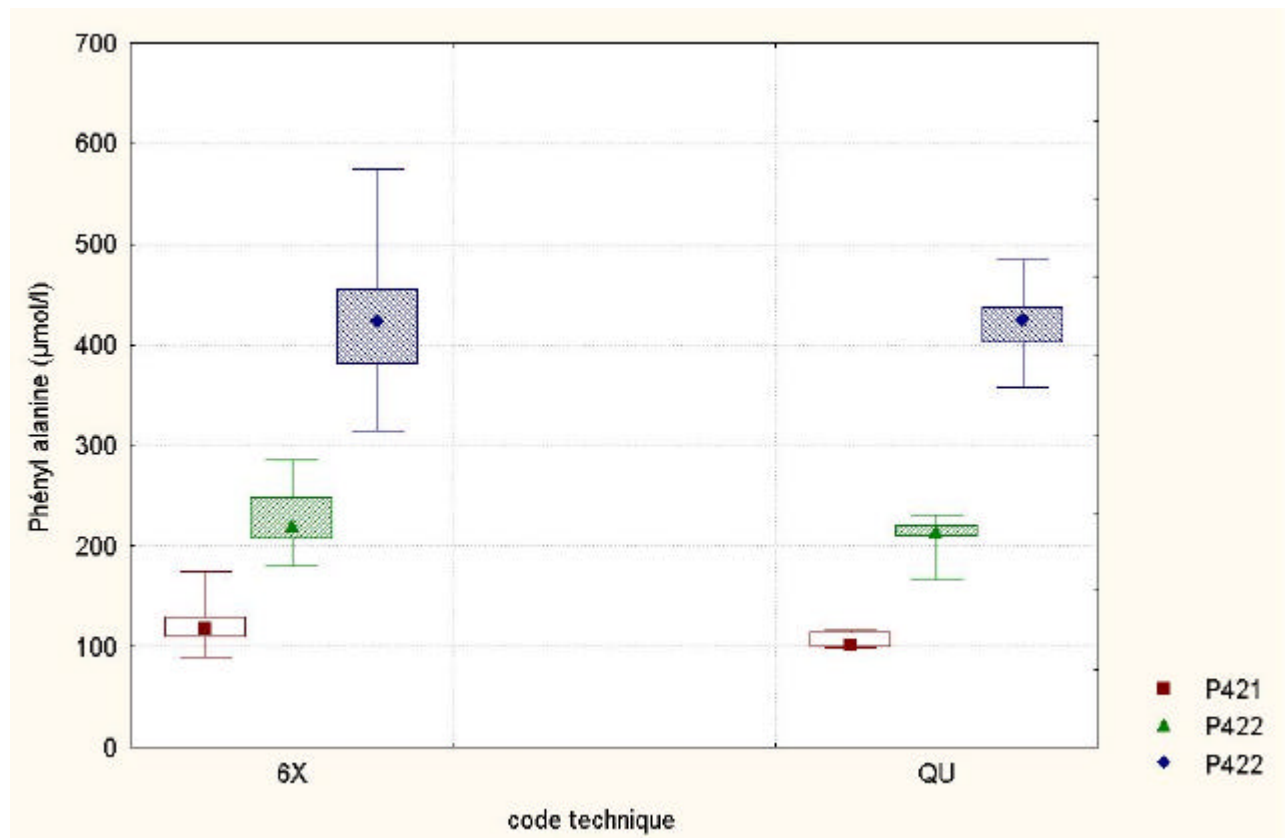
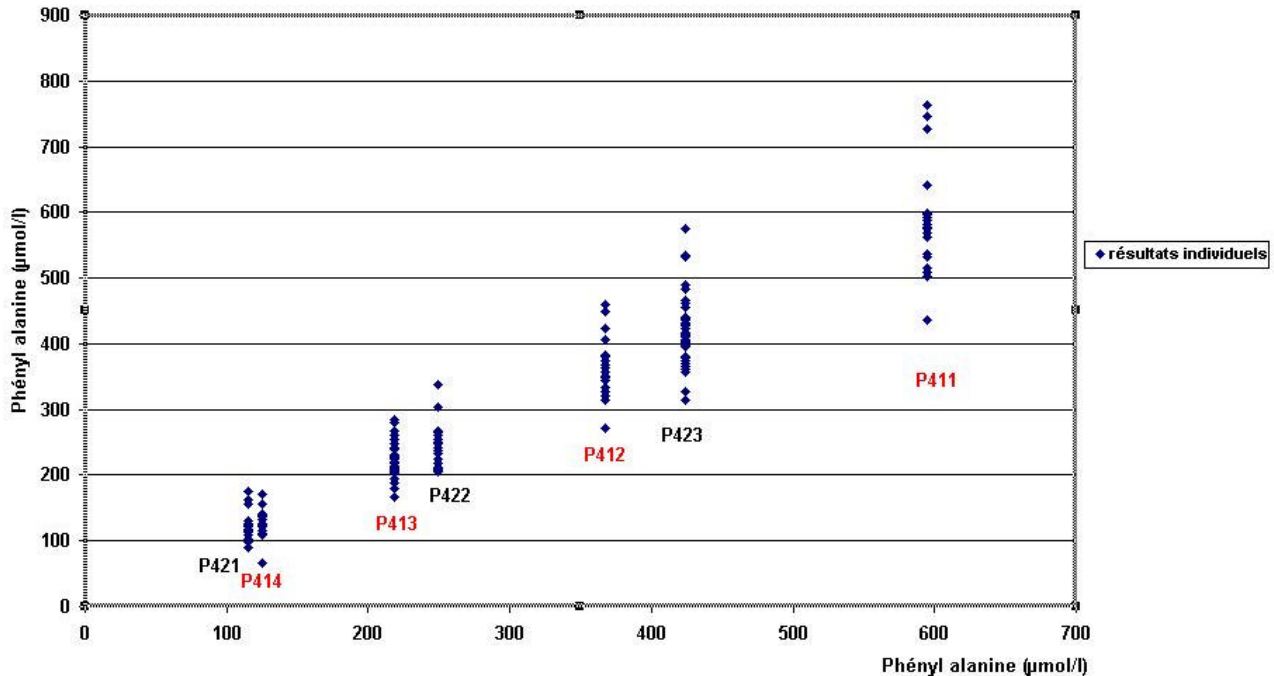


Figure 9 : Récapitulatif des résultats individuels obtenus pour la phénylalanine lors des opérations 04DNN1 et 04DNN2. Les échantillons P414 et P421 ainsi que les échantillons P413 et P422 proviennent d'un même lot.. En abscisse les échantillons sont placés sur la valeur cible consensus (médiane toutes techniques).



Conclusion

Les résultats observés sont globalement satisfaisants :

1. Tous les laboratoires inscrits ont participé aux 2 contrôles.
2. L'arbre décisionnel est identique et l'interprétation donnée par les laboratoires sont satisfaisantes, en cohérence avec le résultat obtenu. En ce qui concerne les quelques différences d'appréciation existantes, elles sont certainement dues à l'ambiguïté de la recommandation d'avoir deux seuils : un seuil de vérification entraînant le contrôle en duplicate de l'échantillon le lendemain et un seuil de décision qui conditionne la conduite médicale à tenir.
3. Les réactifs utilisés présentent une précision correcte compte tenu des conditions de dosage, pour mémoire les dosages sont effectués avec seulement quelques µl de sang total.

Il faut cependant noter :

1. L'apparition pour la mesure de la 17 hydroxyprogestérone d'une différence inter-méthode qui n'était pas significative lors du dernier contrôle Afssaps (2001). La persistance de cette différence pose la question de l'utilisation d'un seuil unique pour toutes les techniques. Il est à noter qu'un matériel de référence vient d'être préparé par l'International Society of Neonatal Screening (ISNS). Son utilisation devrait pouvoir permettre des recalibrations gommant ces différences inter-techniques.
2. La persistance des différences inter-techniques pour la TSH. Cette différence explique la recommandation par l'AFDPHE de l'utilisation de seuils différents selon la trousse utilisée. Il est à noter que malgré un matériel de référence international, les recalibrations faites par les industriels n'ont pas permis de gommer cette différence inter-technique.
3. Pour la phénylalanine, aucune différence inter-technique n'a été mise en évidence, les mêmes calibrants sont utilisés quelle que soit la méthode.

