

Annales du contrôle national de qualité des analyses de biologie médicale

Dépistage néonatal**15DNN1 et 15DNN2****juin et décembre 2015**

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

octobre 2016

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

	15DNN1	15DNN2
Expédition	8/06/2015	7/12/2015
Clôture	6/07/2015	6/01/2016
Edition des compte-rendus individuels	30/09/2015	17/03/2016
Paramètres contrôlés : Echantillons	TSH : T151 – T152 17OH-progestérone : H151 – H152 Phénylalanine : P151 – P152 Trypsine IR : M151 – M152 Hémoglobine S : D151 – D152	TSH : T153 – T154 17OH-progestérone : H153 – H154 Phénylalanine : P153 – P154 Trypsine IR : M153 – M154 Hémoglobine S : D153 – D154
Nombre de laboratoires concernés*	30	28
Nombre de laboratoires participants**	30	28

* 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 2015

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 et mucoviscidose. En 2015, 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 30 puis 28 laboratoires étaient concernés (pour deux régions, l'activité de deux laboratoires a été regroupée). 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 d'hémoglobine S.

Les résultats observés sont globalement satisfaisants : utilisation de techniques présentant une précision correcte, écarts inter-techniques observés pour la Trypsine IR du même ordre que ceux habituellement observés sans nouveaux biais et amélioration nette de l'écart inter-technique pour la TSH suite à la re-standardisation du réactif Cis bio. De plus, les résultats du contrôle 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 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 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. 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 Cisbio Bioassays [AN] par 4 puis 3 laboratoires, la trousse Delfia/Autodelfia hTSH néo Perkin Elmer [KC] par 12 puis 11 laboratoires et la nouvelle trousse GSP hTSH Perkin Elmer [KP] par 5 puis 7 laboratoires. Les résultats des trousse Perkin Elmer (AutoDelfia et GSP) ne diffèrent statistiquement pas, ils ont donc été regroupés pour les calculs statistiques.

Pour tous les niveaux, la précision des trousse Perkin est convenable, généralement proche de 10%. La trousse Cisbio est moins performante avec des CVnp souvent proches de 20%.

Les résultats des opérations réalisées en 2014 montraient un accroissement de l'écart entre les résultats obtenus par les 2 fabricants (Cis bio et Perkin Elmer). 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 a établi que la trousse de TSH AutoDelfia est parfaitement raccordée. La société Cis bio qui sur-dosait d'environ 25%, a effectué une re-calibration de son dosage, effective en juillet 2015.

Ainsi, lors de la première opération réalisée avant la re-calibration, les résultats diffèrent significativement selon le fabricant (figure 1) avec un écart entre les 2 fabricants proche de 50% (T151 – 53% et T152 - 42%), alors que lors de la deuxième opération réalisée en décembre 2015 (figure 2), l'écart s'est nettement réduit : T153 – 5% et T154 – 18%.

Pour les échantillons T151, T152, T153 et T154, l'interprétation des résultats par les biologistes (tableau II) est satisfaisante avec entre 15 et 21 réponses sur 21 en accord avec le consensus. Pour l'échantillon T151, 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 versus 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.

tableau I : Résultats obtenus pour la TSH.

Opération	Echantillon	Code	Fournisseur	n	Médiane (mUI/L)	CVnp (%)
15DNN1	T151	-	Tous réactifs	61	16,2	12,1
		AN	Cis bio	12	24,4	19,2
		KC/KP	Perkin Elmer	49	15,8	6,6
	T152	-	Tous réactifs	63	43,8	13,2
		AN	Cis bio	12	61,1	11,6
		KC/KP	Perkin Elmer	51	42,8	8,7
15DNN2	T153	-	Tous réactifs	33	12,6	10,6
		AN	Cis bio	3	13,2	NC*
		KC/KP	Perkin Elmer	30	12,6	10,3
	T154	-	Tous réactifs	63	31,2	12,4
		AN	IBA Cis bio	9	36,7	23,3
		KC/KP	Perkin Elmer	54	31,0	10,5

NC : Non Calculé

tableau II : Récapitulatif des interprétations données lors des opérations 15DNN1 et 15DNN2 pour le dépistage de l'HC.

Opération	Echantillon	Médiane tous réactif (mUI/L)	Interprétation consensus	Nb de laboratoires en accord avec le consensus
15DNN1	T151	16,2	Résultat Normal	15/21
	T152	43,8	Résultat Pathologique	21/21
15DNN2	T153	12,6	Résultat Normal	21/21
	T154	31,2	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 15 mUI/L pour le seuil d'action.

figure 1 : Diagramme « boîte et moustaches » pour la TSH lors de l'opération 15DNN1 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.

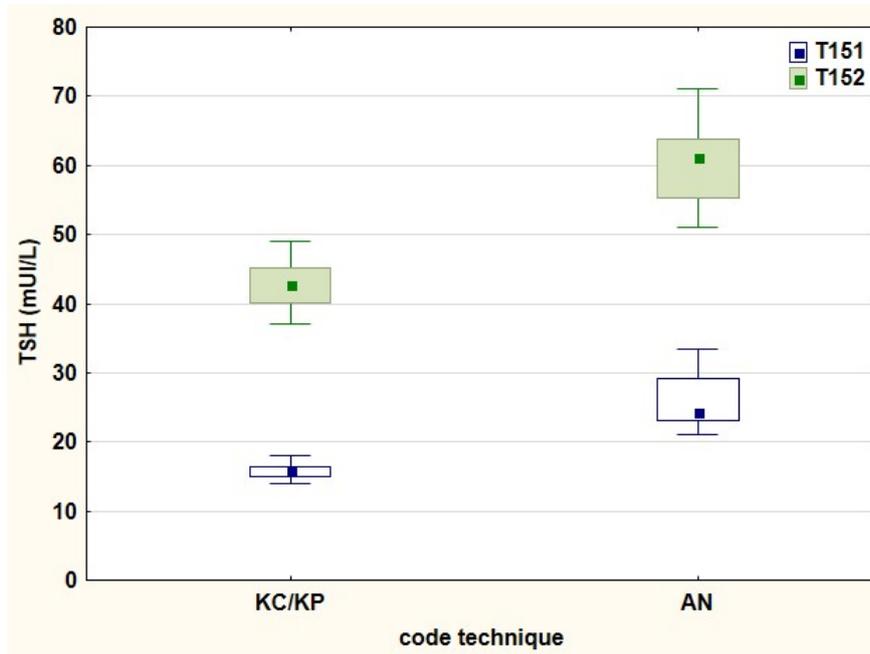
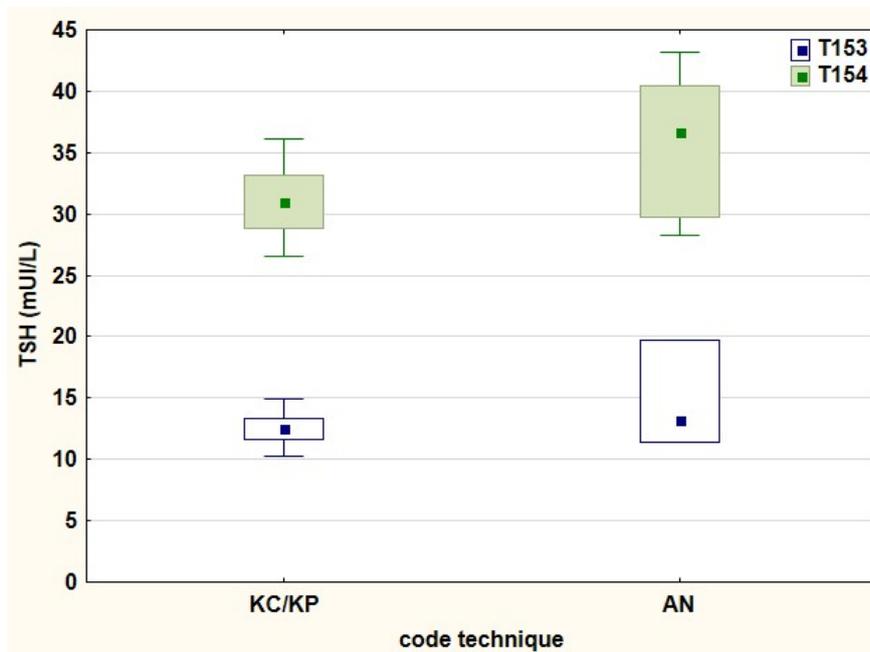


figure 2 : Diagramme « boîte et moustaches » pour la TSH lors de l'opération 15DNN2 en fonction du réactif utilisé. Chaque rectangle représente l'espace interquartile (percentile 75 – percentile 25) avec la position de la médiane (point), les traits inférieurs et supérieurs positionnent le 5^e et le 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. Cinq laboratoires puis trois 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 puis sept laboratoires. Les résultats des trousse Perkin Elmer (AutoDelfia et GSP) ont été regroupés pour les calculs statistiques (pas de différence statistique).

Pour tous les niveaux, la précision des trousse Perkin est convenable, généralement proche de 10%. La trousse Cis bio est moins performante avec des CVnp compris entre 10 et 20%. Toutefois, cette technique n'est pas automatisée. De plus, le volume de sang total (2 μ l) utilisé pour réaliser ce dosage est faible.

Pour les deux opérations, 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, $p < 0,05$). Lors de la première opération, (H151 et H152), l'écart inter-technique est similaire aux résultats obtenus en 2014 (H151 : 84.5% - H142 : 92.4% ; H152 : 65% - H141 : 36,8%). Lors de la seconde opération, les écarts inter-techniques tendent à s'accroître avec une augmentation des résultats obtenus par la technique Cis bio. Il est à noter que cette technique est de moins en moins utilisée (3 laboratoires).

Pour les échantillons H151, H152, H153 et H154, l'interprétation des résultats par les biologistes (tableau IV) est satisfaisante avec 20, 18 et 21 réponses sur 21 en accord avec le consensus. Pour l'échantillon H152, 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 (nmol/L)	CVnp (%)
15DNN1	H151	-	Tous réactifs	60	59,4	13,4
		AN	Cis bio	12	107,6	10,6
		KC/KP	Perkin Elmer	48	57,4	8,1
	H152	-	Tous réactifs	60	35,7	14,4
		AN	Cis bio	12	57,3	10,2
		KC/KP	Perkin/Elmer	48	34,1	10,2
15DNN2	H153	-	Tous réactifs	62	59,6	12,4
		AN	Cis bio	9	146,0	21,9
		KC/KP	Perkin Elmer	53	59,1	12,4
	H154	-	Tous réactifs	61	44,0	13,9
		AN	Cis bio	9	110,0	18,9
		KC/KP	Perkin Elmer	52	43,4	10,7

tableau IV : Récapitulatif des interprétations données lors des opérations 15DNN1 et 15DNN2 pour le dépistage de l'HCS.

Opération	Echantillon	Médiane tous réactifs (nmol/L)	Interprétation consensus	Nb de laboratoires en accord avec le consensus
15DNN1	H151	59,4	Résultat pathologique	20 / 21
15DNN1	H152	35,7	Résultat pathologique	18 / 21
15DNN2	H153	59,6	Résultat pathologique	21 / 21
15DNN2	H154	44,0	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 15DNN1 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.

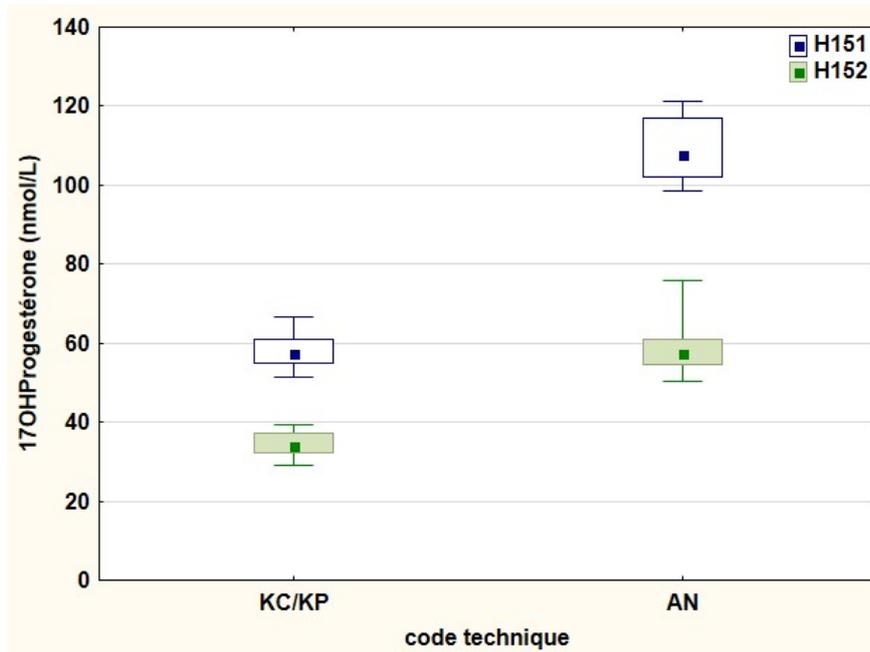
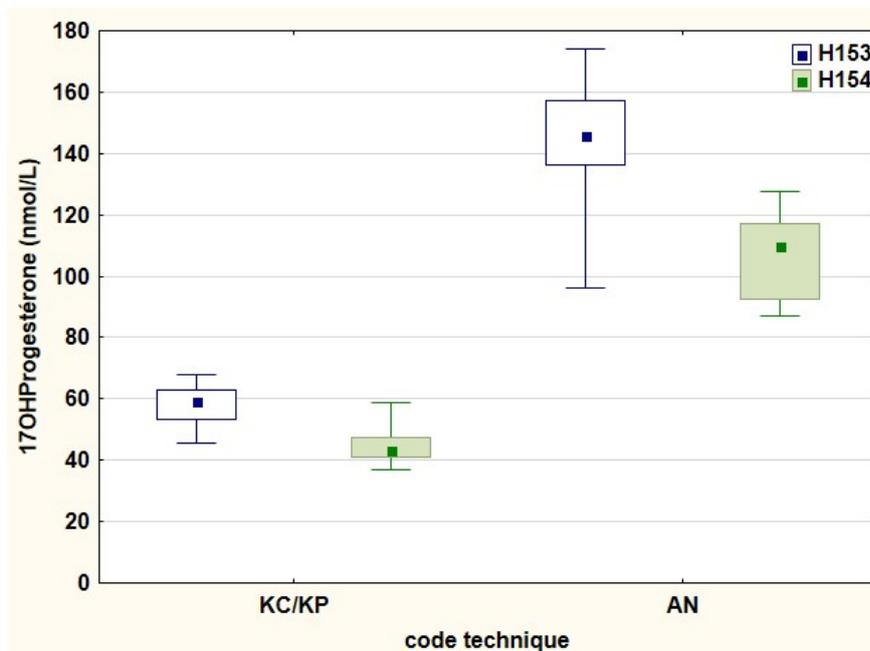


figure 4 : Diagramme « boîte et moustaches » pour la 17OH-progesterone lors de l'opération 15DNN2 en fonction du réactif utilisé. Chaque rectangle représente l'espace interquartile (percentile 75 – percentile 25) avec la position de la médiane (point), les traits inférieurs et supérieurs positionnent 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 puis trois techniques de dosage ont été utilisées par les laboratoires. La grande majorité des laboratoires (19 puis 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. Lors de l'opération 15DNN2, quatre laboratoires ont réalisé le dosage de la phénylalanine sur l'automate GSP Perkin Elmer (trousse [KP]).

En 2015, les échantillons envoyés sont positionnés en dessous (P151) et au-dessus du seuil décisionnel (P152, P153, P154).

Les résultats des échantillons P151 et P152 sont comparables quelle que soit la technique utilisée. Les deux techniques utilisées sont étalonnées avec les mêmes calibrants (Bio-Rad). Lors de l'opération 15DNN2, la médiane des résultats obtenus avec l'automate GSP est statistiquement plus basse que celle obtenue avec la trousse Quantase [QU].

La précision de la technique fluorimétrique est satisfaisante avec des CVnp proches 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, 20 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 (%)
15DNN1	P151	-	Tous réactifs	54	152,0	9,0
		QU	Bio-Rad	6	147,2	2,3
		6X	manuelle	48	152,6	9,8
	P152	-	Tous réactifs	59	318,0	6,9
		QU	Bio-Rad	6	337,3	9,2
		6X	manuelle	53	316,0	6,9
15DNN2	P153	-	Tous réactifs	60	632,6	12,1
		QU	Bio-Rad	6	745,6	11,5
		KP	Perkin Elmer	12	560,0	16,3
		6X	manuelle	42	632,6	6,9
	P154	-	Tous réactifs	63	237,0	9,4
		QU	Bio-Rad	6	270,5	7,7
		KP	Perkin Elmer	12	225,0	9,9
		6X	manuelle	45	242,0	8,6

tableau VI : Récapitulatif des interprétations données lors des opérations 15DNN1 et 15DNN2 pour le dépistage de la PCU.

Opération	Echantillon	Médiane tous réactifs (µmol/L)	Interprétation consensus	Nbre de laboratoires en accord avec le consensus
15DNN1	P151	152,0	Résultat normal	18 / 21
	P152	318,0	Résultat pathologique	20 / 21
15DNN2	P153	632,6	Résultat pathologique	21 / 21
	P154	237,0	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 15DNN1 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.

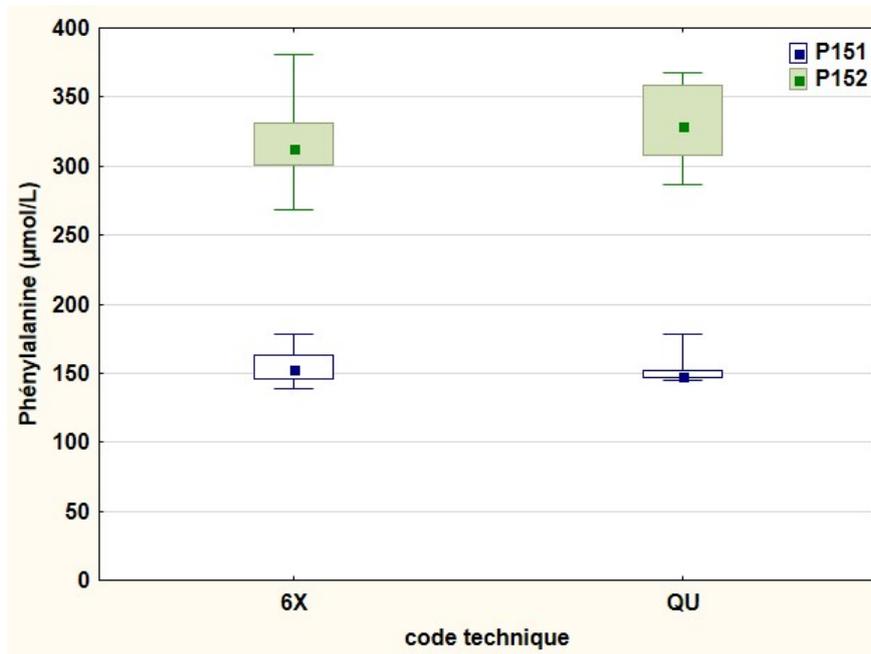
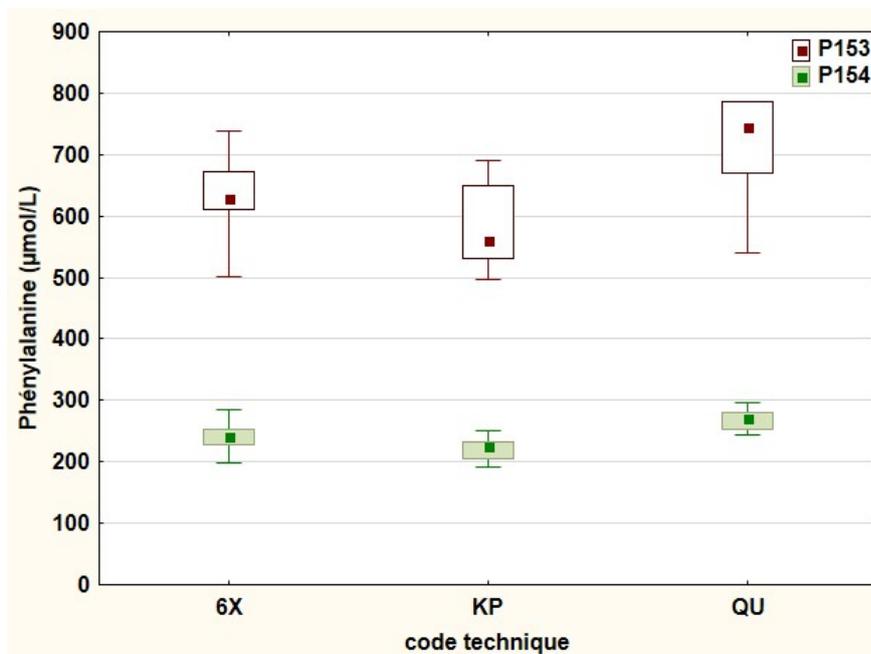


figure 6 : Diagramme « boîte et moustaches » pour la phénylalanine lors de l'opération 15DNN2 en fonction du réactif utilisé. Chaque rectangle représente l'espace interquartile (percentile 75 – percentile 25) avec la position de la médiane (point), les traits inférieurs et supérieurs positionnent le 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. Cinq puis quatre laboratoires ont utilisé la trousse RIA-gnost Trypsin neonatal Cis bio [AN], douze laboratoires, la trousse Delfia/Autodelfia IRT Perkin Elmer [KC] et quatre puis cinq laboratoires la trousse GSP Perkin Elmer [KP]. Les résultats des trousse Perkin Elmer (AutoDelfia et GSP) ont été regroupés pour les calculs statistiques (pas de différence statistique).

En 2015, les échantillons envoyés sont positionnés en dessous (M151, M153, M154) et au-dessus du seuil décisionnel (M152). Deux des échantillons envoyés (M151 et M154) 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 2015 (figure 9).

La précision intra-technique inter-laboratoire des trousse (CVnp) 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. 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 30% et 39%. Cet écart est stable depuis 2013.

L'interprétation finale des résultats par les biologistes est satisfaisante, avec 20, 21, 21 et 16 réponses sur 21 en accord avec le consensus (tableau VIII). Pour l'échantillon M153, 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 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 (µg/L)	CVnp (%)
15DNN1	M151	-	Tous réactifs	27	44,7	30,5
		AN	Cis bio	11	59,6	8,8
		KC/KP	Perkin Elmer	16	42,0	9,9
	M152	-	Tous réactifs	63	77,9	12,8
		AN	Cis bio	15	103,7	6,6
		KC/KP	Perkin Elmer	48	75,9	6,1
15DNN2	M153	-	Tous réactifs	53	56,6	13,8
		AN	Cis bio	12	77,5	9,1
		KC/KP	Perkin Elmer	41	55,3	6,5
	M154	-	Tous réactifs	27	46,2	22,9
		AN	Cis bio	10	58,4	2,8
		KC	Perkin Elmer	17	44,4	7,0

tableau VIII : Récapitulatif des interprétations données lors des opérations 15DNN1 et 15DNN2 pour la TIR.

Opération	Echantillon	Médiane tous réactifs (µg/L)	Interprétation consensus	Nb de laboratoires en accord avec le consensus
15DNN1	M151	44,7	Résultat normal	20 / 21
	M152	77,9	Résultat pathologique	21 / 21
15DNN2	M153	56,6	Résultat normal	16 / 21
	M154	46,2	Résultat normal	21 / 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 15DNN1 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.

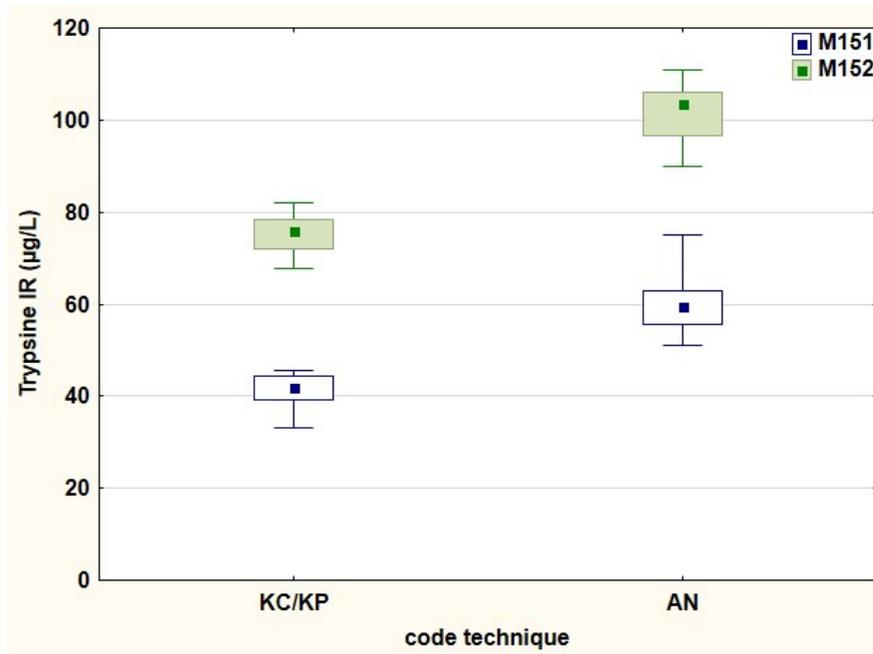


figure 8 : Diagramme « boîte et moustaches » pour la trypsine IR lors de l'opération 15DNN2 en fonction du réactif utilisé. Chaque rectangle représente l'espace interquartile (percentile 75 – percentile 25) avec la position de la médiane (point), les traits inférieurs et supérieurs positionnent le 5^e et le 95^e percentile.

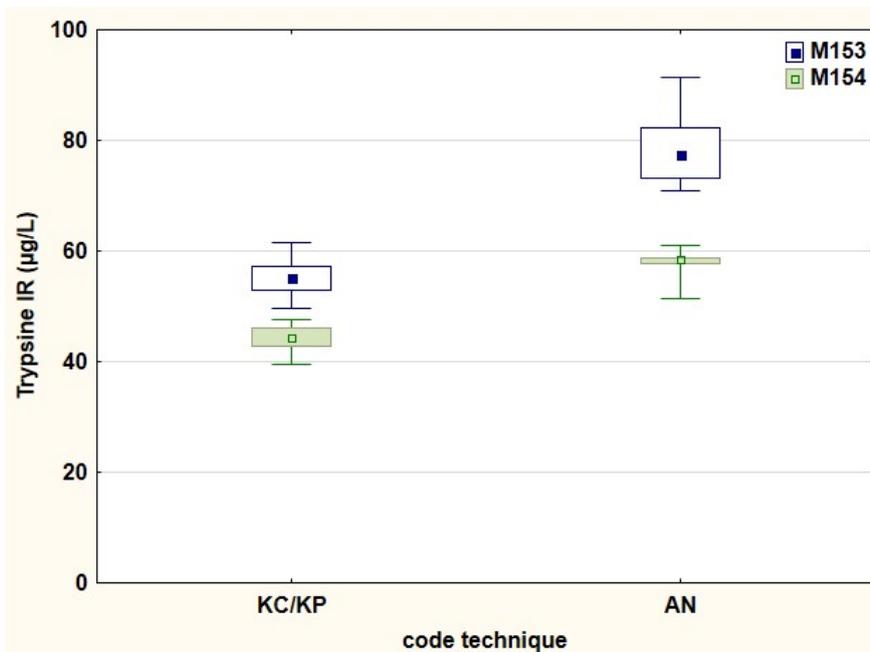
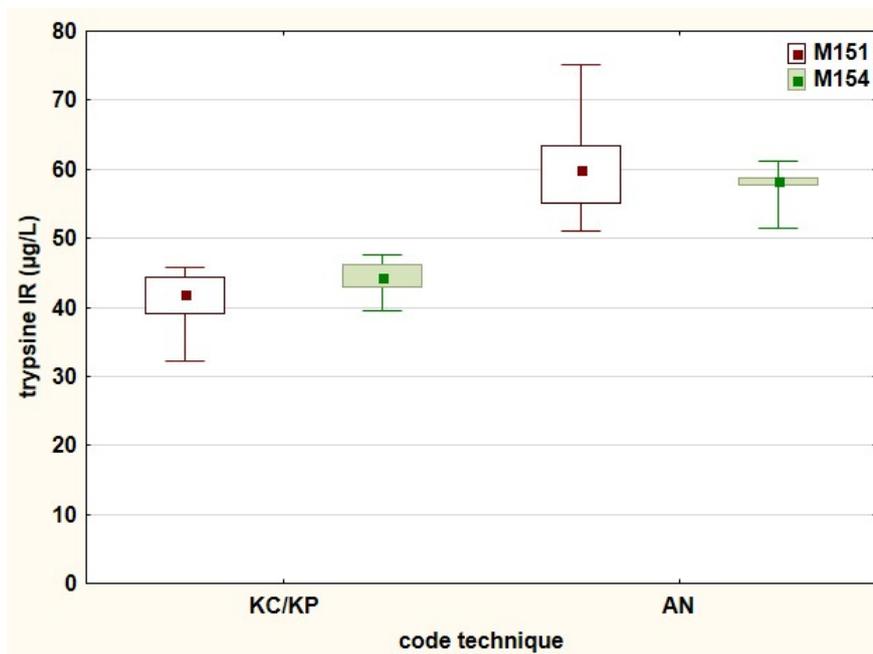


figure 9 : Diagramme « boîte et moustaches » pour la trypsine IR lors de l'opération 15DNN1 et 15DNN2 (échantillon M151 et M154) en fonction du réactif utilisé. Chaque rectangle représente l'espace interquartile (percentile 75 – percentile 25) avec la position de la médiane (point), les traits inférieurs 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 de la bêta globine dont au moins un porte la mutation bêta 6 glu-val (HbS). 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 chaque échantillon, 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 CLHP par échange de cations pour l'examen d'orientation puis une isoélectrofocalisation pour la confirmation des résultats. Les deux autres laboratoires réalisent soit une CLHP par échange de cations puis une électrophorèse capillaire de zone, soit une électrophorèse de zone capillaire puis une CLHP 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
15DNN1	D151	HbF / HbA / HbS	Enfant hétérozygote AS	5/5
	D152	HbF / HbA	Résultat normal	5/5
15DNN2	D153	HbF / HbA / HbS	Enfant hétérozygote AS	5/5
	D154	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
CLHP 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 2015.

	Echantillons															
	T151	T152	T153	T154	H151	H152	H153	H154	P151	P152	P153	P154	M151	M152	M153	M154
TSH	25%	20%	25%	20%												
17 OH-progestérone					20%	20%	25%	25%								
Phénylalanine									30%	25%	25%	25%				
Trypsine IR													20%	20%	20%	20%

tableau XII – Pourcentage de « bons résultats » évalués en A ou en B en 2015.

	15DNN1	15DNN2
TSH	98,8% (82 / 83)	98,5% (65 / 66)
17 OH-progestérone	94,0% (79 / 84)	92,9% (79 / 85)
Phénylalanine	93,8% (75 / 80)	100% (84 / 84)
Trypsine IR	97,0% (64 / 66)	100% (61 / 61)

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 objectivaient un accroissement de l'écart inter-techniques.

Les deux fabricants ont été questionnés par l'ANSM sur la traçabilité de leurs trousse en regard du 3^e standard préparé par l'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 surdosait d'environ 25%, a modifié en conséquence la calibration de son dosage de TSH. Le changement de calibration était effectif en juillet 2015. Les résultats de la deuxième opération réalisée en décembre 2015 ont permis de vérifier qu'après juillet 2015 l'écart de résultats entre les trousse Cis bio et Perkin Elmer s'était nettement réduit (T153 : 5% et T154 : 18%).

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 ». Lors de la deuxième opération, les écarts inter-techniques tendent à s'accroître avec une augmentation des résultats obtenus par la technique Cis bio. Il est à noter que cette technique est de moins en moins utilisée (3 laboratoires).

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 (10,35%) est comparable à celui obtenu par la technique Bio-Rad Quantase (10,30%). On note l'apparition d'une trousse automatisée (GSP PKU néonatal, Perkin Elmer).

4 - Trypsine IR

La première opération de contrôle réalisé par le CNQ a eu lieu en 2007. Comme chaque année depuis 2007 on observe en 2015 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, 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 en 2015 sont très satisfaisants.

Conclusion

Les résultats obtenus lors des opérations du contrôle national de qualité « dépistage néonatal 2015 » sont globalement satisfaisants. L'augmentation des écarts inter-techniques pour la 17OH Progestérone lors de la deuxième opération est à surveiller.

Les écarts inter-techniques pour la trypsine IR sont du même ordre que ceux habituellement observés sans nouveau biais. 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 Cis bio a modifié la calibration de sa trousse. Les résultats de la deuxième opération confirment une nette amélioration de l'écart inter-techniques.

Pour le dépistage de la drépanocytose, les résultats obtenus en 2015 sont très satisfaisants.

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