

# Annales du contrôle national de qualité des analyses de biologie médicale

<b>Dépistage néonatal</b>	<b>19DNN1</b>	<b>juin 2019</b>
---------------------------	---------------	------------------

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

septembre 2019

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

	19DNN1
Expédition	3/06/2019
Clôture	1/07/2019
Edition des compte-rendus individuels	
Paramètres contrôlés : Echantillons	TSH : T191 – T192 17OH-progestérone : H191 – H192 Phénylalanine : P191 – P192 Trypsine IR : M191 – M192 Hémoglobine S : D191 – D192
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 2019

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 2019, 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, tous les laboratoires ont rendus des conclusions identiques à l'exception des conclusions données pour l'un des échantillons envoyés pour l'HCS dont la concentration cible était vraiment très proche du seuil. Cependant, les conclusions rendues demeuraient logiques au regard des résultats obtenus et des seuils utilisés par les laboratoires.

## 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 9 laboratoires et la trousse GSP hTSH Perkin Elmer [KP] par 7 laboratoires.

En 2019, les échantillons envoyés sont positionnés en-dessus (T192) et au-dessous (T191) du seuil décisionnel.

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 (17% pour l'échantillon T191 et 16% pour l'échantillon T192). 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 T191 et T192 l'interprétation des résultats par les biologistes (tableau II) est satisfaisante avec 16 réponses sur 16 en accord avec le consensus.

tableau I : Résultats obtenus pour la TSH.

Opération	Echantillon	Code	Fournisseur	n	Médiane (mUI/L)	CVnp (%)
19DNN1	T191	-	Tous réactifs	24	13,1	13,7
		KC	Auto Delfia - Perkin Elmer	11	13,9	6,4
		KP	GSP – Perkin Elmer	13	11,7	11,1
	T192	-	Tous réactifs	48	21,1	12,3
		KC	Auto Delfia - Perkin Elmer	21	23,0	5,2
		KP	GSP – Perkin Elmer	27	19,6	6,8

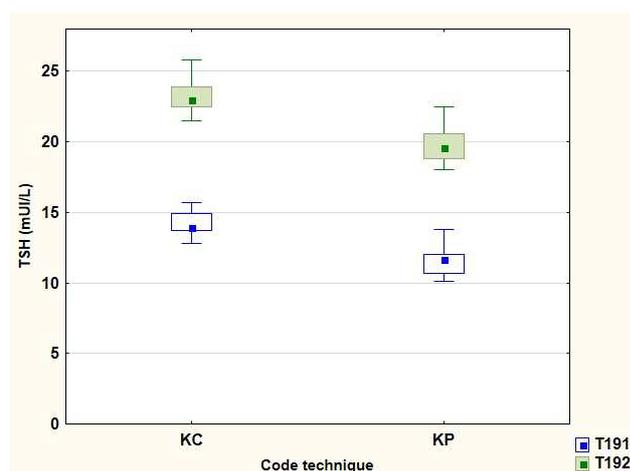
tableau II : Récapitulatif des interprétations données lors de l'opération 19DNN1 pour le dépistage de l'HC.

Opération	Echantillon	Médiane tous réactif (mUI/L)	Interprétation consensus	Nb de laboratoires en accord avec le consensus
19DNN1	T191	13,1	Résultat Normal	16/16
	T192	21,1	Résultat Pathologique	16/16

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 19DNN1 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<sup>e</sup> et le 95<sup>e</sup> 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 la figure 2.

Comme pour le dosage de la TSH, deux trousse de dosage ont été utilisées par les laboratoires. Sept laboratoires ont utilisé la trousse AutoDelfia 17 $\alpha$ OHP néo Perkin Elmer [KC] et neuf laboratoires, la trousse de dosage GSP Perkin Elmer [KP].

En 2019, les échantillons envoyés sont positionnés en dessous (H191) et très proche (H192) du seuil décisionnel.

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 (10% pour l'échantillon H191 et 8% pour l'échantillon H192).

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

Pour les deux échantillons, l'interprétation des résultats devait se faire pour un enfant né à terme (tableau IV). L'interprétation finale des résultats par les biologistes est satisfaisante avec 16 réponses sur 16 en accord avec le consensus pour l'échantillon H191. Pour l'échantillon H192, la concentration cible proche du seuil (25,7 nmol/L versus 25 nmol/L) explique l'absence de consensus avec 10 réponses sur 16 en faveur d'un résultat pathologique. Toutefois, les conclusions rendues demeurent logiques au regard des résultats obtenus et des seuils utilisés par les laboratoires.

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

Opération	Echantillon	Code	Fournisseur	n	Médiane (nmol/L)	CVnp (%)
19DNN1	H191	-	Tous réactifs	22	16,2	10,3
		KC	Auto Delfia - Perkin Elmer	13	17,2	9,7
		KP	GSP – Perkin Elmer	9	15,6	6,7
	H192	-	Tous réactifs	45	25,7	8,4
		KC	Auto Delfia - Perkin Elmer	21	26,8	7,1
		KP	GSP – Perkin Elmer	24	24,7	6,6

**tableau IV** : Récapitulatif des interprétations données lors de l'opération 19DNN1 pour le dépistage de l'HCS.

Opération	Echantillon	Médiane tous réactifs (nmol/L)	Interprétation consensus	Nb de laboratoires en accord avec le consensus
19DNN1	H191	16,2	Résultat Normal	16 / 16
	H192	25,7	Pas de consensus	-

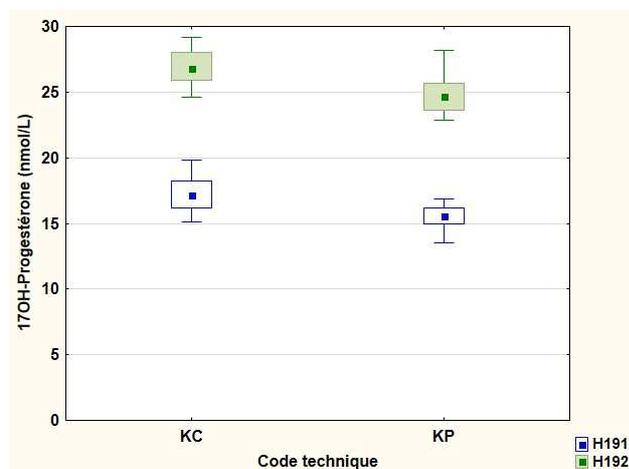
NB: les seuils qui étaient recommandés par l'AFDPHE sont :

- 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 19DNN1 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<sup>e</sup> et le 95<sup>e</sup> 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 (10) dosent la phénylalanine grâce à une technique fluorimétrique [6X]. Six laboratoires ont réalisés le dosage de la phénylalanine sur l'automate GSP [KP].

En 2019, les échantillons envoyés sont positionnés au-dessus du seuil décisionnel. La médiane des résultats obtenus avec l'échantillon P192 est proche du seuil décisionnel.

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 modéré (18% pour l'échantillon P191 et 24% pour l'échantillon P192).

La précision intra-technique inter-laboratoire de la technique fluorimétrique proche de 20% est en net augmentation par rapport aux résultats obtenus antérieurement pour des échantillons de concentrations équivalentes. Aucune explication n'a été trouvée (pas d'effet lot).

L'interprétation finale des résultats par les biologistes (tableau VI) est satisfaisante, avec 16 réponses (P191 et P192) sur 16 en accord avec le consensus.

**tableau V** : Résultats obtenus pour la phénylalanine.

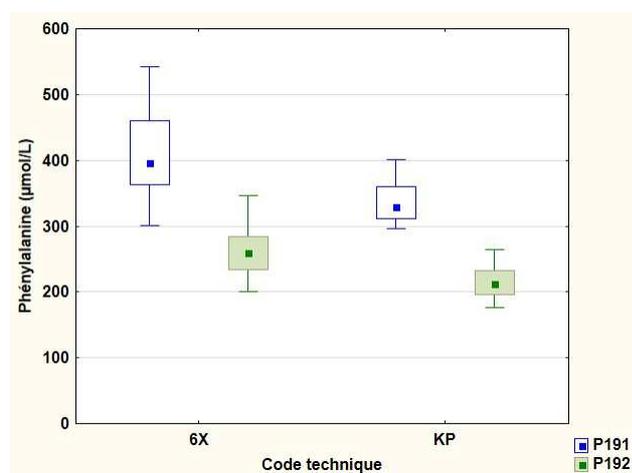
Opération	Echantillon	Code	Fournisseur	n	Médiane ( $\mu\text{mol/L}$ )	CVnp (%)
19DNN1	P191	-	Tous réactifs	48	372,8	20,0
		6X	manuelle	30	396,9	19,9
		KP	Perkin Elmer GSP	18	329,4	12,4
	P192	-	Tous réactifs	48	236,7	17,6
		6X	manuelle	30	259,5	14,1
		KP	Perkin Elmer GSP	18	212,9	13,2

**tableau VI** : Récapitulatif des interprétations données lors de l'opération 19DNN1 pour le dépistage de la PCU.

Opération	Echantillon	Médiane tous réactifs (µmol/L)	Interprétation consensus	Nbre de laboratoires en accord avec le consensus
19DNN1	P191	372,8	Résultat Pathologique	16 / 16
	P192	236,7	Résultat Pathologique	16 / 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 19DNN1 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<sup>e</sup> et le 95<sup>e</sup> 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. Neuf laboratoires ont utilisé la trousse AutoDelfia IRT Perkin Elmer [KC] et sept laboratoires la trousse GSP Perkin Elmer [KP].

Aucune différence significative (test U de mann et Whitney) n'a été observés 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 16 réponses sur 16 en accord avec le consensus (tableau VIII).

**tableau VII** : Résultats obtenus pour la trypsin IR.

Opération	Echantillon	Code	Fournisseur	n	Médiane (µg/L)	CVnp (%)
19DNN1	M191	-	Tous réactifs	48	78,5	9,2
		KC	Auto Delfia - Perkin Elmer	27	79,7	8,4
		KP	GSP – Perkin Elmer	21	77,4	6,0
	M192	-	Tous réactifs	30	50,3	6,3
		KC	Auto Delfia - Perkin Elmer	13	50,2	8,8
		KP	GSP – Perkin Elmer	17	50,4	8,1

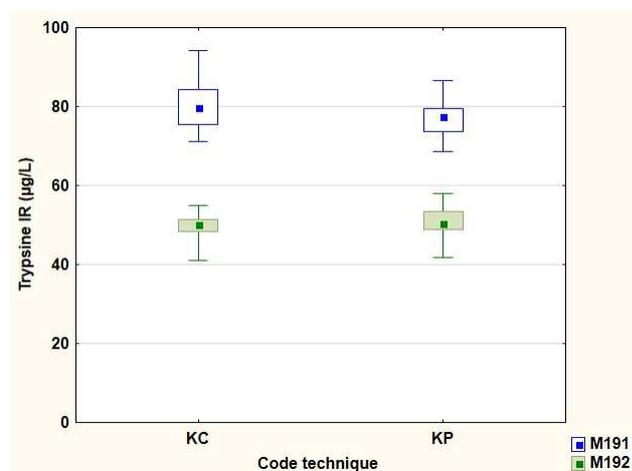
**tableau VIII** : Récapitulatif des interprétations données lors de l'opérations 19DNN1 pour la TIR.

Opération	Echantillon	Médiane tous réactifs (µg/L)	Interprétation consensus	Nb de laboratoires en accord avec le consensus
19DNN1	M191	78,5	Résultat Pathologique	16 / 16
	M192	50,3	Résultat Normal	16 / 16

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 19DNN1 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<sup>e</sup> et le 95<sup>e</sup> 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 de la présence de variants anormaux de l'hémoglobine à partir d'une tache de sang déposée sur papier par 2 techniques distinctes (Chromatographie liquide haute performance et électrophorèse capillaire). En 2019, une technique de quantification de l'hémoglobine S par un système MALDI-TOF (spectrométrie de masse) a été utilisée pour la première fois.

Les principaux résultats concernant le dépistage de la drépanocytose sont donnés dans le tableau IX.

Les résultats sont très satisfaisants. Pour l'échantillon D192 les sept laboratoires ont rendu le même résultat et ils ont conclu de manière identique. Les résultats étaient en accord avec la réponse attendue. Pour l'échantillon D191, en toute logique, le laboratoire utilisant la spectrométrie de masse n'a pas identifié le variant hémoglobine C. Contrairement aux autres techniques, la technique MALDI-TOF n'identifie effectivement que le variant S qui est le seul responsable d'un SDM. En cas de détection de la présence d'hémoglobine S, celle-ci est confirmée par HPLC.

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. Deux autres laboratoires réalisent une CHLP par échange de cations puis une électrophorèse de zone capillaire, un autre une électrophorèse de zone capillaire puis une CHLP par échange de cations et enfin un laboratoire utilise la spectrométrie de masse. Pour rappel, les recommandations de l'AFDPHE stipulaient de ne contrôler que les profils anormaux.

**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
19DNN1	D191	HbF / HbA / HbC	Enfant hétérozygote AC	6/7
	D192	HbF / HbA	Résultat normal	7/7

**tableau X** : Techniques utilisées pour le dépistage de la drépanocytose.

technique	Examen d'orientation	Examen de confirmation
Isoélectrofocalisation sur gel d'agarose	0	4
Electrophorèse capillaire de zone (Cappilarys Sebia)	1	2
CHLP par échange de cations (Variant BioRad)	5	0
Spectrométrie de masse (NéoSickle Biomane)	1	0

## 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. Le résultat du dosage initial et la valeur prise compte lors du 2<sup>e</sup> dosage, si celui-ci est réalisé, ont été évalués.

Les résultats sont très satisfaisants (tableau XII).

**tableau XI** – Limites acceptables appliquées en 2019.

	Echantillons							
	T191	T192	H191	H192	P191	P192	M191	M192
TSH	20%	20%						
17 OH-progesterone			25%	20%				
Phénylalanine					25%	25%		
Trypsine IR							20%	20%

**tableau XII** – Pourcentage de « résultats conformes » évalués en A ou en B en 2019.

	19DNN1
TSH	98,1% (51 / 52)
17 OH-progesterone	96,0% (48 / 50)
Phénylalanine	98,3%(59 / 60)
Trypsine IR	100% (55 / 55)

## Conclusion

Les résultats obtenus lors de l'opération du contrôle national de qualité « dépistage néonatal 2019 » sont globalement satisfaisants et l'interprétation des résultats par les laboratoires impliqués dans le dépistage néonatal a été cohérente.