

# Annales du Contrôle National de Qualité des Analyses de Biologie Médicale

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

Dépistage néonatal **09DNN1 et 09DNN2**

*juin et décembre 2009*

Edition : décembre 2010

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

	09DNN1	09DNN2
Expédition	25/05/2009	7/12/2009
Clôture	22/06/2009	4/01/2010
Edition des compte-rendus individuels	13/08/2009	6/05/2010
Paramètres contrôlés : Echantillons	TSH : T911 17OH-progestérone : H911 Phénylalanine : P911 Trypsine IR : M911, M912, M913	TSH : T921 17OH-progestérone : H921 Phénylalanine : P921 Trypsine IR : M921, M922, M923
Nombre de laboratoires concernés*	26	26
Nombre de laboratoires participants**	26	26

\* 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 2009

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 2009, deux opérations ont été programmées au cours desquelles les paramètres de quatre dépistages ont été contrôlés : phénylalanine (PCU), TSH (HC), 17 OH-progestérone (HCS) et Trypsine Immuno Réactive (mucoviscidose).

Au total 26 laboratoires étaient concernés. Selon l'activité déclarée (dépistage PCU et/ou dépistage HC et HCS et CF), 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).

Les résultats observés sont globalement satisfaisants : bonne participation des laboratoires au contrôle national de qualité, utilisation de techniques présentant une précision correcte et interprétation cohérente des résultats.

Pour la TSH, à la demande de l'Afssaps, le réactif de dosage de TSH de la société Cis bio International a été re-calibré en juin 2007 par rapport au Standard International préparé par l'International Society of Neonatal Screening (ISNS). L'écart de résultats observé précédemment entre les 2 trousseaux TSH utilisées s'est resserré. Les opérations de contrôle 2009 montrent que les réactifs utilisés présentaient une précision correcte et l'écart inter-technique était pour la TSH et la trypsine IR du même ordre que celui habituellement observé sans nouveau biais.

Pour la 17 OH progestérone, les opérations de contrôle 2009 ont été permis d'observer les performances de la trousse modifiée par Perkin Elmer. En effet, de nombreuses interrogations ont été soulevées par ce changement de réactif, a priori développé pour minimiser les interférences de la mesure de 17 OH progestérone chez le prématuré. Des valeurs significativement plus basses ont été également observées chez le nouveau-né à terme, obligeant la commission technique de l'AFDPHE à reconsidérer les valeurs seuils.

## 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, test de Wilcoxon). 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

Les échantillons envoyés sont des taches de sang d'origine humaine déposées sur papier Whatman 903 puis séchées. Le sang utilisé pour fabriquer les échantillons est ajusté à l'hématocrite d'un sang de nouveau-né.

Pour la TSH, la 17OH-progesterone et la phénylalanine, 2 échantillons ont été envoyés lors des 2 opérations de contrôle.

Pour la trypsine IR, 6 échantillons ont été envoyés lors des 2 opérations.

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 ».

# Résultats des participants

## TSH

Les principaux résultats concernant le dosage de la TSH sur sang séché sont donnés dans le tableau I. Comme en 2008, deux trousse de dosage ont été utilisées : la trousse ELSA TSH-NN Cis bio International [AN] par 7 laboratoires et la trousse Delfia/Autodelfia hTSH néo Perkin Elmer [KC] par 15 laboratoires.

La précision de chaque trousse est convenable pour la zone proche du seuil (entre 20 et 50 mUI/l) avec des CV np compris entre 11 et 14%. La trousse ELSA TSH-NN Cis bio International [AN] est moins précise (CV np = 33,7%) dans la zone de concentration basse (<10 mUI/l).

Les résultats obtenus, en fonction du réactif utilisé, sont illustrés sur les figures 1 et 2. Quel que soit le niveau de concentration des échantillons, les résultats diffèrent significativement selon le réactif utilisé. La trousse Cis bio International [AN] donne des résultats plus élevés que la trousse Perkin Elmer [KC]. L'écart entre les 2 réactifs est d'environ 50% quel que soit le niveau contrôlé, sans modification pour le niveau haut (T911) avec celui observé en 2008 (50% versus 47%). Rappelons que depuis l'action correctrice menée par la société Cis bio International : re-calibration de la trousse sur le Standard International préparé par l'International Society of Neonatal Screening, ISNS (juin 2007), l'écart observé entre les 2 réactifs s'est réduit (cf annales 2008).

Pour les échantillons T911 et T921, l'interprétation des résultats par les biologistes (tableau II) est satisfaisante avec 22 réponses sur 22 en accord avec le consensus.

tableau I - Résultats obtenus pour la TSH.

Opération	Echantillon	Code	Fournisseur	n	Médiane*	CV np (%)
09DNN1	T911	-	Tous réactifs	66	38,7	23,1
		AN	Cis bio International	21	53,0	14,2
		KC	Perkin Elmer	45	36,1	11,4
09DNN2	T921	-	Tous réactifs	28	7,8	30,6
		AN	Cis bio International	11	11,0	33,7
		KC	Perkin Elmer	17	7,1	9,9

\* exprimé en mUI/l de sang total

tableau II - Récapitulatif des interprétations données lors des opérations 09DNN1 et 09DNN2 pour le dépistage de l'HC.

Opération	Echantillon	Médiane* (mUI/l)	Interprétation consensus	Nb de laboratoires en accord avec le consensus
09DNN1	T911	38,7	Résultat pathologique	22 / 22
09DNN2	T921	7,8	Résultat normal	22 / 22

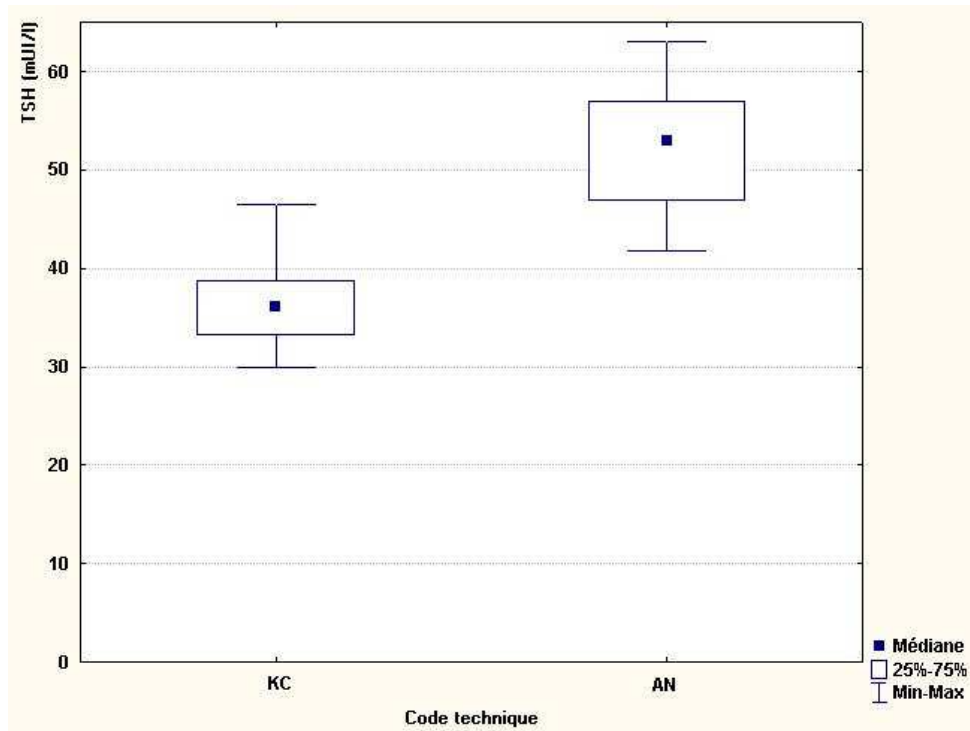
\*médiane tous réactifs

NB: les seuils recommandés par l'AFDPHE sont

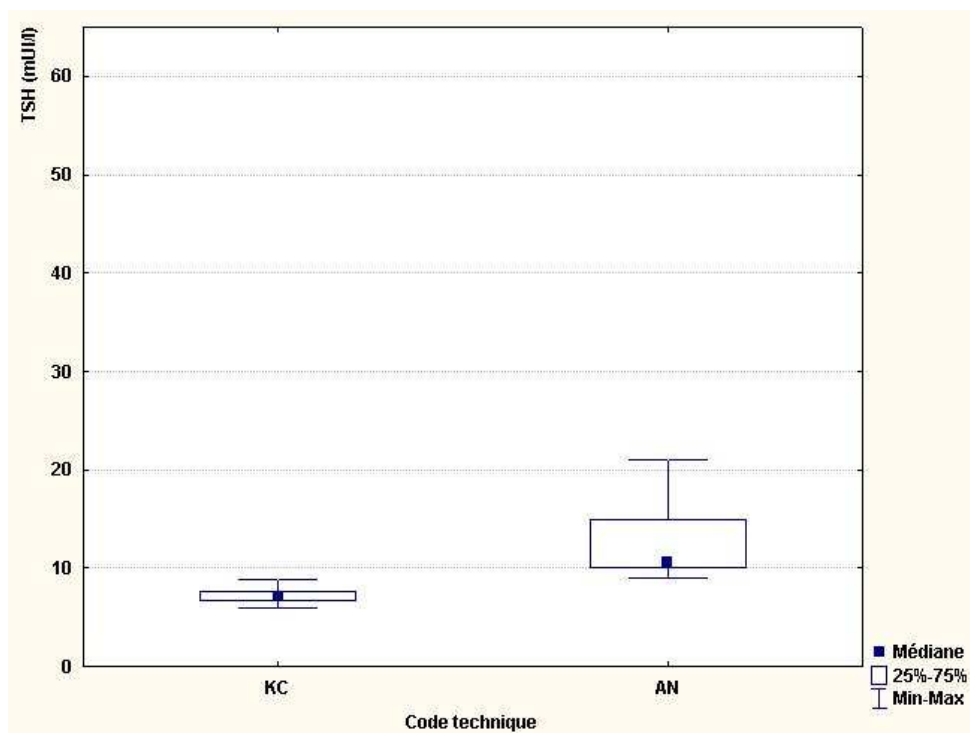
- avec la technique AN : 20 mU/l pour le seuil de « retest » pour lequel le résultat est contrôlé en duplicate et 25 mU/l pour le seuil d'action (demande d'un second prélèvement ou convocation du nouveau-né)
- avec la technique KC : 15 mU/l pour le seuil de « retest » et 20 mU/l pour le seuil d'action.

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 09DNN1 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 les valeurs maximales et minimales obtenues.



**figure 2** : Diagramme « boîte et moustaches » pour la TSH lors de l'opération 09DNN2 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 les valeurs maximales et minimales obtenues.



## 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.

Comme pour le dosage de TSH, deux trousse de dosage ont été utilisées par les laboratoires. Huit laboratoires ont utilisé la trousse 17-OHP-NN Cis bio International et quatorze laboratoires, la trousse Delfia / AutoDelfia 17 $\alpha$ OHP néo Perkin Elmer.

A partir d'avril 2009 la société Perkin Elmer a distribué une trousse de dosage de la 17 OH-progestérone modifiée utilisant des anticorps différents.

Lors de l'opération 09DNN1 (juin 2009), 2 laboratoires utilisaient encore l'ancienne version de la trousse Perkin Elmer. Leurs résultats ont été exclus des calculs statistiques. Les résultats obtenus avec le réactif Perkin Elmer « nouvelle standardisation » sont abaissés de 25% par rapport aux résultats obtenus par les 2 laboratoires utilisant l'ancienne version. La diminution des résultats observée chez les patients se retrouve mais à un degré moindre pour les échantillons de contrôle national de qualité (voir le chapitre commentaire).

En 2009, les échantillons envoyés encadrent la zone décisionnelle. On peut noter que les deux réactifs présentent une précision (CV np) équivalente (différence non significative). Dans cette zone, les CV sont proches de 15%, ce qui est tout à fait correct compte-tenu du faible volume de sang total (2 $\mu$ l) utilisé pour réaliser ce dosage.

Les résultats obtenus en fonction de la trousse utilisée sont illustrés sur les figures 3 et 4. Pour les deux échantillons (H911 et H921), la médiane des résultats obtenus avec trousse Cis bio International est significativement plus élevée (H911 : 59% et H921 : 27%) que la médiane des résultats obtenus avec la trousse Perkin Elmer (Test U de Mann-Whitney,  $p < 0,05$ ). Avec la modification de la standardisation de la trousse Perkin Elmer, l'écart inter-technique s'est accru par rapport aux résultats obtenus lors des précédentes opérations (H921 vs H821 année 2008 et H711 année 2007 et H911 vs H522 année 2005).

Pour les 2 échantillons, l'interprétation finale des résultats par les biologistes (tableau IV) est satisfaisante avec 22 réponses sur 22 en accord avec le consensus.

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

Opération	Echantillon	Code	Fournisseur	n	Médiane*	CV np (%)
09DNN1	H911	-	Tous réactifs	60	57,0	38,5
		AN	Cis bio International	24	83,0	10,3
		KC	Perkin Elmer	36	52,3	8,6
09DNN2	H921	-	Tous réactifs	30	18,0	20,3
		AN	Cis bio International	10	21,5	15,5
		KC	Perkin Elmer	20	17,0	13,6

\* exprimé en nmol/l de sang total

**tableau IV** - Récapitulatif des interprétations données lors des opérations 09DNN1 et 09DNN2 pour le dépistage de l'HCS.

Opération	Echantillon	Médiane* (nmol/l)	Interprétation consensus	Nb de laboratoires en accord avec le consensus
09DNN1	H911	57,0	Résultat pathologique	22 / 22
09DNN2	H921	18,0	Résultat normal	22 / 22

\* médiane tous réactifs

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

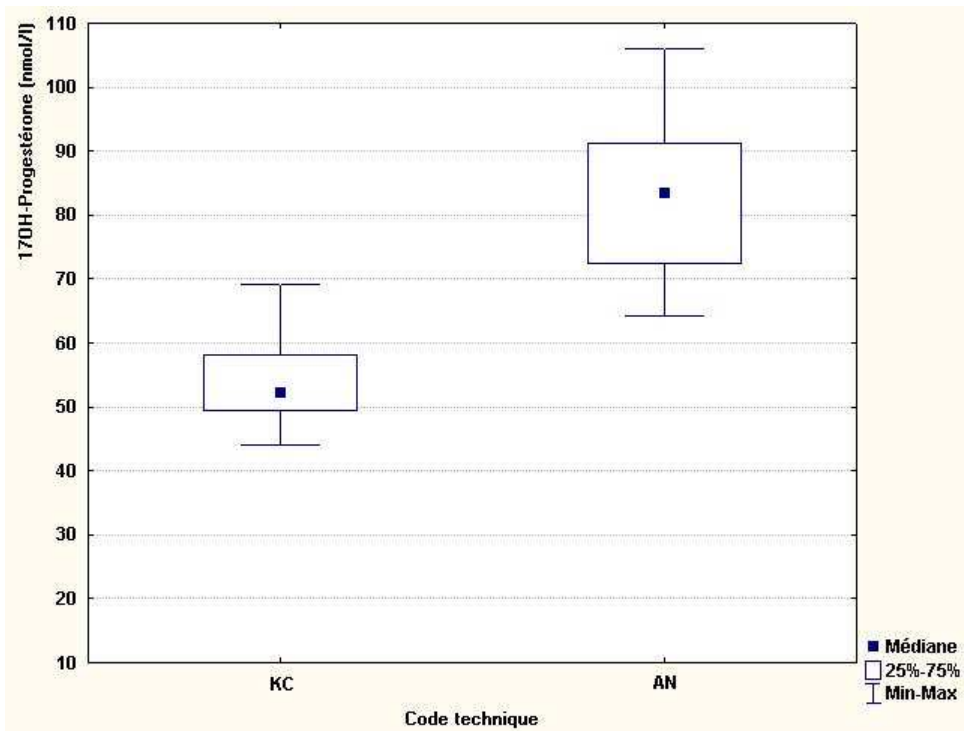
- avec la technique AN : 50 nmol/l pour le seuil de « retest » (contrôle du résultat en duplicate) et 60 nmol/l pour le seuil d'action (demande d'un second prélèvement ou convocation du nouveau-né).

- avec la technique KC enfant prématuré : 35 nmol/l pour le seuil de « retest » (contrôle du résultat en duplicate) et 40 nmol/l pour le seuil d'action

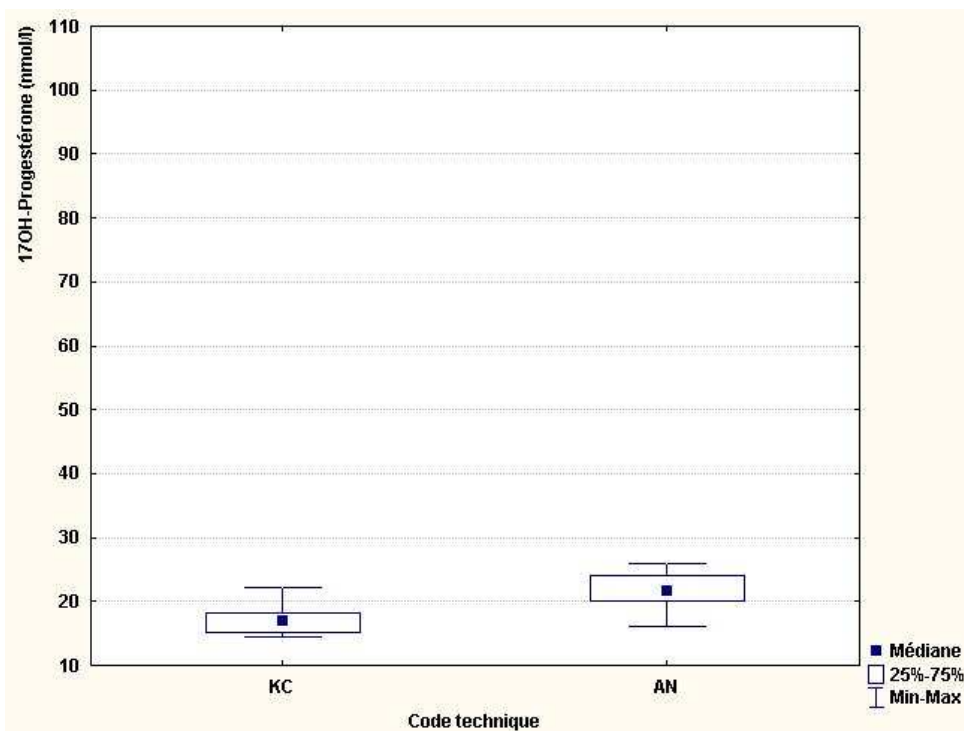
- avec la technique KC enfant à terme : 20 nmol/l pour le seuil de « retest » (contrôle du résultat en duplicate) et 25 nmol/l pour le seuil d'action

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 09DNN1 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 les valeurs maximales et minimales obtenues.



**figure 4** : Diagramme « boîte et moustaches » pour la 17 OH-progesterone lors de l'opération 09DNN2 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 les valeurs maximales et minimales obtenues.



## Phénylalanine

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

Deux techniques de dosage ont été utilisées par les laboratoires. La grande majorité des laboratoires (18 / 22) 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 systématiquement que par 2 laboratoires. Deux autres laboratoires l'utilisent seulement pour contrôler les résultats du premier dosage.

En 2009, les échantillons envoyés sont au dessus du seuil décisionnel. Dans cette zone, la précision de chaque technique est équivalente et satisfaisante avec des CV np inférieurs à 20%, sans changement par rapport aux résultats obtenus en 2005 et en 2007 avec des échantillons de concentrations équivalentes.

Les résultats obtenus en fonction de la technique utilisée sont illustrés sur les figures 5 et 6. Lors de la deuxième opération 2009, on note d'une part, un accroissement de la dispersion des résultats obtenus avec la technique manuelle [6X] et d'autre part, des résultats significativement plus bas avec la trousse Quantase Neonatal Bio Rad [QU] (test U de Mann et Whitney). Les explications de ces modifications dans les résultats restent à trouver. Cependant cela est sans conséquence sur l'interprétation des résultats. L'interprétation finale des résultats par les biologistes (tableau VI) est satisfaisante. Les deux interprétations en désaccord avec le consensus (échantillon P921) sont logiques au regard de l'arbre décisionnel retenu par le laboratoire, les résultats de ces laboratoires sont en dessous mais proches du seuil d'action utilisé par le laboratoire.

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

Opération	Echantillon	Code	Fournisseur	n	Médiane*	CV np (%)
09DNN1	P911	-	Tous réactifs	65	497,7	9,9
		QU	Bio-Rad	10	514,2	17,2
		6X	manuelle	55	496,1	9,9
09DNN2	P921	-	Tous réactifs	38	133,1	20,1
		QU	Bio-Rad	6	114,8	19,0
		6X	manuelle	32	139,2	20,0

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

**tableau VI** - Récapitulatif des interprétations données lors des opérations 09DNN1 et 09DNN2 pour le dépistage de la PCU.

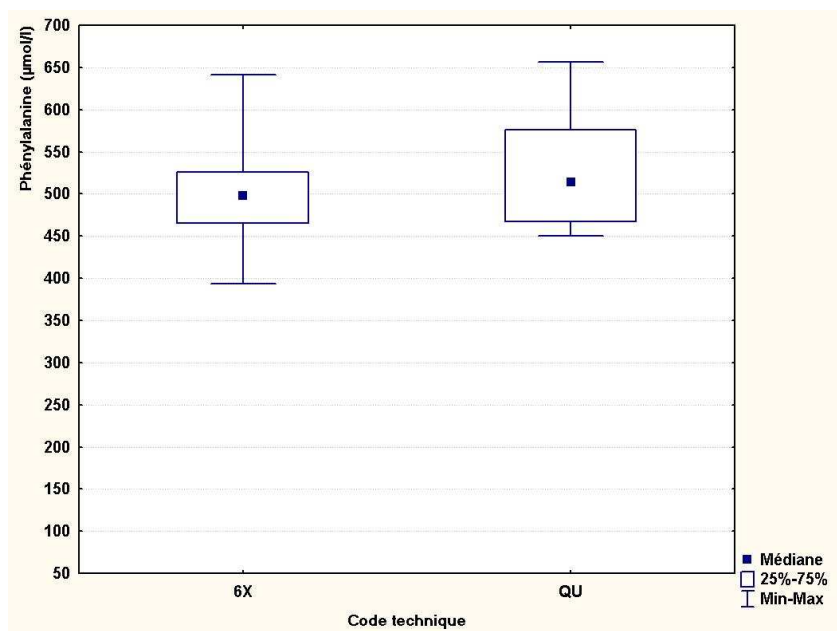
Opération	Echantillon	Médiane* ( $\mu\text{mol/l}$ )	Interprétation consensus	Nbre de laboratoires en accord avec le consensus
09DNN1	P911	497,7	Résultat pathologique	22 / 22
09DNN2	P921	133,1	Résultat normal	20 / 22

\* médiane tous réactifs

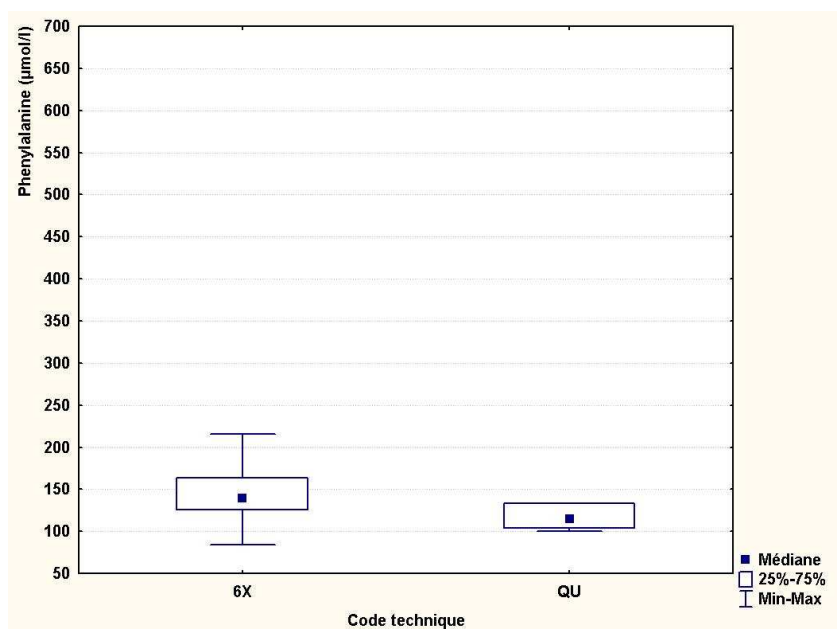
NB: les seuils recommandés par l'AFDPHE sont 150  $\mu\text{mol/l}$  pour le seuil de « retest » (contrôle du résultat en duplicate) et 180  $\mu\text{mol/l}$  pour le seuil d'action (demande d'un second prélèvement ou convocation du nouveau-né)



**figure 5** : Diagramme « boîte et moustaches » pour la phénylalanine lors de l'opération 09DNN1 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 les valeurs maximales et minimales obtenues.



**figure 6** : Diagramme « boîte et moustaches » pour la phénylalanine lors de l'opération 09DNN2 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 les valeurs maximales et minimales obtenues.



## Trypsine IR (TIR)

Les principaux résultats concernant le dosage de la TIR néonatale sont donnés dans le tableau VII.

Deux trousse de dosage ont été utilisées par les laboratoires. Huit laboratoires ont utilisé la trousse RIA-gnost Trypsin neonatal Cis bio International et quatorze laboratoires, la trousse Delfia/Autodelfia IRT Perkin Elmer.

En 2009, les 6 échantillons envoyés encadraient la zone décisionnelle, (proche des seuils de retest et d'action). Dans la zone décisionnelle (entre 55 et 65 µg/l de sang total), la précision intra-technique inter-laboratoire des 2 trousse (CVnp) est comprise, selon le niveau de l'échantillon, entre 5 et 14%, ce qui est tout à fait correct compte-tenu du faible volume de sang total (2µl) utilisé pour réaliser ce dosage.

Les résultats obtenus, en fonction de la trousse utilisée, sont illustrés sur les figures 7 et 8. Quel que soit le niveau des échantillons, les résultats diffèrent significativement selon la technique utilisée (test U de Mann et Whitney,  $p < 0,001$ ). La trousse Cis bio International donne toujours les résultats les plus élevés.

Lors de l'opération 09DNN1, l'écart entre la médiane des résultats obtenus avec la trousse Cis bio International et la médiane des résultats obtenus avec la trousse Perkin Elmer varie en fonction de la concentration étudiée de 28 % à 43%. Cet écart est compris entre 15 % et 26% lors de l'opération 09DNN2.

Certains échantillons provenaient d'un même lot de production, il en est ainsi des couples d'échantillons M912 – M923 et M913 – M921 (Tableau VIII). Pour ces échantillons provenant d'un même lot mais dosés successivement lors des 2 opérations, la concentration moyenne toutes techniques obtenue lors des 2 opérations est statistiquement identique (différence non significative, test de Wilcoxon). On peut donc conclure à la bonne stabilité des résultats au cours de l'année 2009 (figure 9).

Toutefois, lors de l'opération 09DNN2, les résultats médians obtenus par les 2 trousse se sont rapprochés, ainsi l'écart passe de 39% (M912) à 15% (M923) pour le couple M912 – M923 et de 43% (M913) à 26% (M921) pour le couple M913 – M921.

Une interprétation des résultats obtenus était demandée, l'interprétation finale des résultats par les biologistes (tableau IX) est satisfaisante lorsqu'une interprétation consensus était possible (M911, M912, M922 et M923). Même si l'interprétation du laboratoire est en désaccord avec le consensus, la conclusion demeure logique au regard du résultat obtenu et de la stratégie retenue par le laboratoire.

Pour les échantillons M913 et M921, aucun consensus n'a pu être établi. La conclusion dépend clairement du réactif utilisé : les utilisateurs de la trousse Cis bio International ont majoritairement rendu « résultat pathologique » et les utilisateurs Perkin Elmer « résultat normal », reflétant pour cette zone décisionnelle proche du seuil d'action la discordance des résultats obtenus avec les 2 trousse.

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

Opération	Echantillon	Code	Fournisseur	n	Médiane*	CV np (%)
09DNN1	M911	-	Tous réactifs	66	94,8	17,9
		AN	Cis bio International	24	112,8	6,6
		KC	Perkin Elmer	42	88,1	10,1
	M912	-	Tous réactifs	28	38,8	25,4
		AN	Cis bio International	12	48,6	15,3
		KC	Perkin Elmer	16	35,0	4,7
	M913	-	Tous réactifs	63	60,5	24,6
		AN	Cis bio International	24	81,3	13,6
		KC	Perkin Elmer	39	56,7	5,4
09DNN2	M921	-	Tous réactifs	64	62,0	18,1
		AN	Cis bio International	24	74,5	6,4
		KC	Perkin Elmer	40	59,2	6,9
	M922	-	Tous réactifs	38	55,4	16,0
		AN	Cis bio International	22	59,0	6,7
		KC	Perkin Elmer	16	47,2	6,0
	M923	-	Tous réactifs	26	36,0	16,7
		AN	Cis bio International	12	40,5	24,8
		KC	Perkin Elmer	14	35,3	6,3

\* exprimé en µg/l de sang total

**tableau VIII** - Récapitulatif des échantillons envoyés lors des opérations 09DNN1 et 09DNN2.

Niveau	Echantillons	
	09DNN1	09DNN2
1	M912	M923
2		M922
3	M913	M921
4	M911	

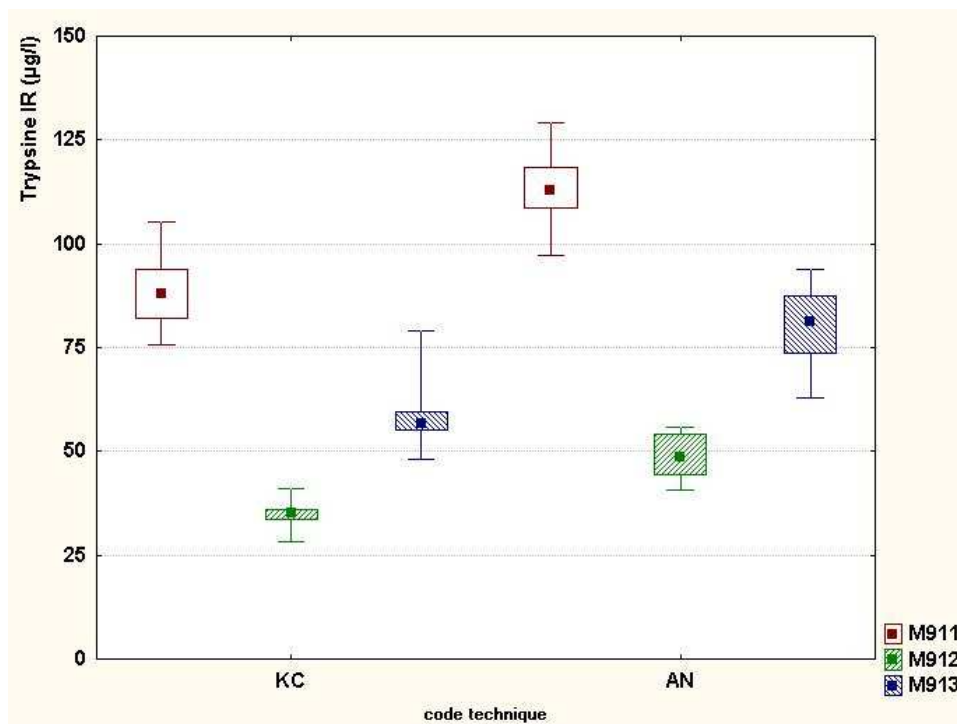
**tableau IX** - Récapitulatif des interprétations données lors des opérations 09DNN1 et 09DNN2 pour la TIR.

Opération	Echantillon	Médiane* (µg/l)	Interprétation consensus	Nb de laboratoires en accord avec le consensus
09DNN1	M911	94,8	Résultat pathologique	22/22
	M912	38,8	Résultat normal	22/22
	M913	60,5	Pas d'interprétation consensus	-
09DNN2	M921	62,0	Pas d'interprétation consensus	-
	M922	55,4	Résultat normal	21 / 22
	M923	36,0	Résultat normal	22/22

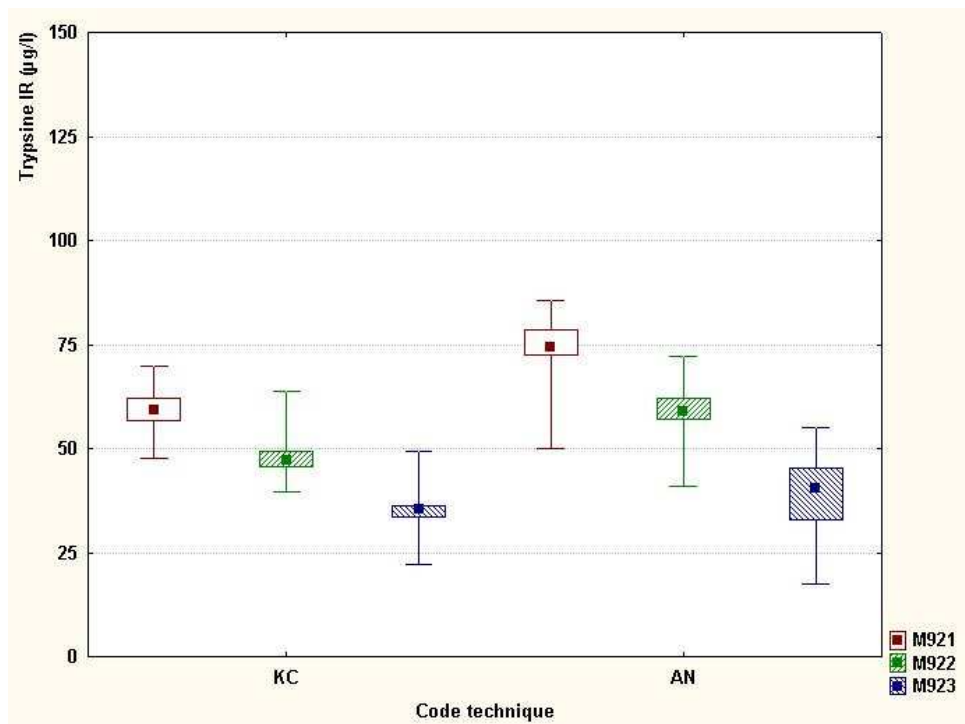
\* médiane tous réactifs

NB: les seuils recommandés par l'Association Française pour le Dépistage et la Prévention des Handicaps de l'Enfant (AFDPHE) sont 60 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). La conclusion « résultat pathologique » doit être rendue lorsque le résultat est supérieur au seuil d'action après contrôle en duplicate.

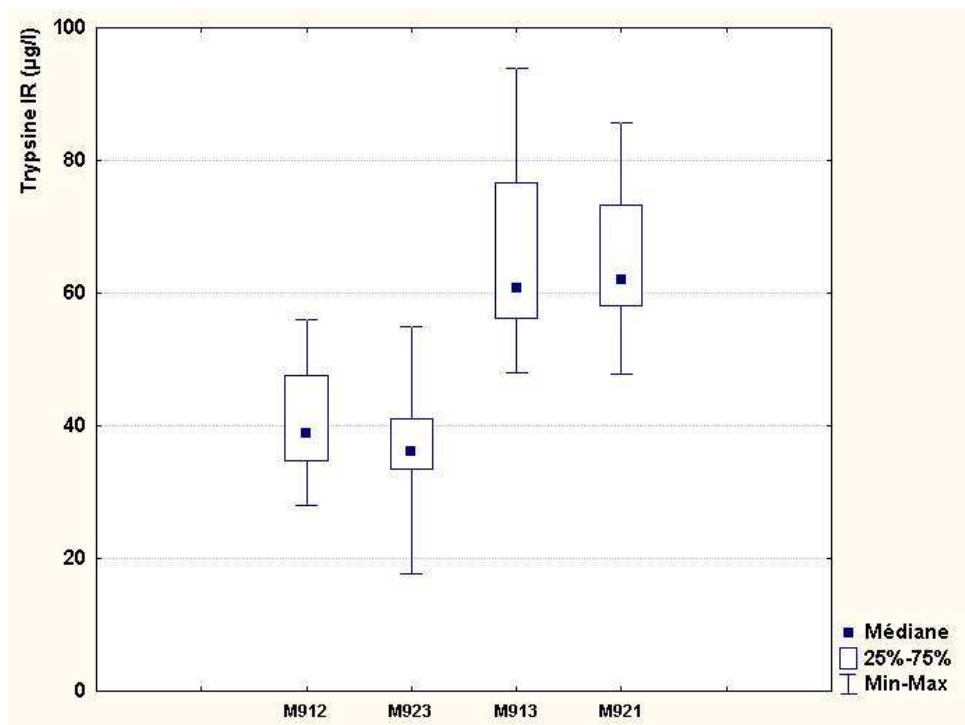
**figure 7** : Diagramme « boîte et moustaches » pour la trypsine IR lors de l'opération 09DNN1 en fonction du réactif utilisé. Chaque rectangle représente l'espace interquartile (percentile 75 – percentile 25) avec la position de la médiane (point), les traits inférieurs et supérieurs positionnent les valeurs maximales et minimales obtenues.



**figure 8** : Diagramme « boîte et moustaches » pour la trypsine IR lors de l'opération 09DNN2 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 les valeurs maximales et minimales obtenues.



**figure 9** : Diagramme « boîte et moustaches » des résultats toutes techniques pour les échantillons de trypsine IR provenant d'un même lot de production (M912 et M923 ; M913 et M921). Chaque rectangle représente l'espace interquartile (percentile 75 – percentile 25) avec la position de la médiane (point), les traits inférieurs et supérieurs positionnent les percentiles 5 et 95.



## Evaluation des résultats individuels par des limites acceptables

Les résultats obtenus par chaque laboratoire pour le dosage de TSH, 17OH-progesterone et phénylalanine lors des 2 opérations 2009 ont été évalués au regard des limites acceptables définies depuis 2007 (tableau X). Pour plus de détails, voir les annales 07DNN. Les résultats obtenus en 2009 pour la trypsine IR n'ont pas été évalués.

Rappelons que seul le résultat du dosage initial est évalué.

Les résultats sont dans l'ensemble satisfaisants (tableau XI). Notons toutefois une baisse du pourcentage de « résultats acceptables » pour le dosage de la phénylalanine lors de la deuxième opération 2009.

tableau X – Limites acceptables appliquées en 2009.

	<i>Echantillons</i>					
	T911	T921	H911	H921	P911	P921
TSH	20%	30%				
17 OH-progesterone			25%	30%		
Phénylalanine					25%	25%

tableau XI – Pourcentage de « résultats acceptables » évalués en A ou en B en 2009.

	09DNN1	09DNN2
TSH	95,5% (21 / 22 laboratoires)	95,5% (21 / 22 laboratoires)
17 OH-progesterone	95,5% (21 / 22 laboratoires)	100% (22 / 22 laboratoires)
Phénylalanine	90,9% (20 / 22 laboratoires)	72,7% (16 / 22 laboratoires)

## Commentaires sur les résultats

### 1 – TSH

A la demande de l'Afssaps, le réactif de la société Cis bio International a été re-standardisé en juin 2007 par rapport au Standard International préparé par l'ISNS. Après l'action correctrice menée par la société Cis bio International, l'écart entre les trousses Cis bio International et Perkin Elmer s'est resserré.

En 2009, les résultats des opérations 09DNN1 et 09DNN2 objectivent :

- Un écart de 35% dans la zone des seuils d'action, en partie corrigé par la recommandation AFDPHE d'utiliser un seuil spécifique pour chaque réactif (Cis bio International : 25 mUI/l et Perkin Elmer : 20 mUI/l)
- Un écart de 50% pour un niveau de concentration d'environ 40 mUI/l, sans modification depuis novembre 2007 (opération 07DNN2).

L'étude par la Commission technique de l'AFDPHE du pourcentage de prélèvements présentant des résultats supérieurs au « seuil d'action » montre que pour les laboratoires utilisant la trousse Cis bio International, le pourcentage d'échantillons au-dessus du seuil d'action a diminué en 2008 puis s'est stabilisé. Il passe ainsi de 0,53% en 2006 à 0,21% en 2008 puis à 0,25% en 2009.

Pour les laboratoires utilisant la trousse Perkin Elmer, le pourcentage d'échantillons au-dessus du seuil d'action a augmenté avec 0,11% en 2009 versus 0,07% en 2008 (Tableau XII). Rappelons qu'en 2007 la trousse Perkin Elmer sous-estimait légèrement les échantillons préparés à partir du standard International ISNS. L'Afssaps a donc demandé à la société Perkin Elmer de se raccorder au standard international ISNS. La société s'est engagée à indiquer dans ses notices comment son dispositif se raccorde au deuxième standard international ISNS dès sa mise à disposition. Lors de l'opération 09DNN2, la notice réactif n'était toujours pas modifiée.

Enfin, il faut noter que 7 des 15 laboratoires utilisant le réactif Perkin Elmer ont abaissé leur seuil d'action ce qui peut entraîner une hétérogénéité des conclusions rendues.

**tableau XII** – Evolution des pourcentages de tests supérieurs au seuil d'action depuis 2006 (données recueillies par la commission technique AFDPHE).

Réactif	Année	% tests supérieurs au seuil d'action
Cis bio International	2006	0,53%
	2007	0,34%
	2008	0,21%
	2009	0,25%
Perkin Elmer (Delfia / Auto Delfia)	2006	0,07%
	2007	0,07%
	2008	0,07%
	2009	0,11%

NB: les seuils d'action recommandés par l'AFDPHE sont les suivants :

- Cis bio International : 25 mU/l
- Perkin Elmer : 20 mU/l.

## 2 – 17OH-Progestérone

A partir d'avril 2009 la société Perkin Elmer a distribué une trousse de dosage de la 17 OH-progestérone modifiée utilisant des anticorps différents, a priori développée pour minimiser les interférences sur la mesure de 17 OH progestérone chez le prématuré, chez lequel les dérivés stéroïdiens sulfatés sont physiologiquement majoritaires.

La commission technique de l'AFDPHE a réalisé au début de l'année 2009 une étude comparative portant sur 15600 échantillons de nouveau-nés, les corrélations des concentrations de 17OH progestérone mesurées avec les deux trousse (ancienne et nouvelle) ont été étudiées (tableau XIII).

**tableau XIII** – Corrélations entre les concentrations de 17OH progestérone mesurées avec l'ancienne et la nouvelle trousse Perkin Elmer (données recueillies par la commission technique AFDPHE).

Age de gestation	Nouveau-nés prématurés		Nouveau-nés à terme
	≤ 32 S.A.*	Entre 32 et 36 S.A.	> 36 S.A.
Y : nouvelle trousse X : ancienne trousse	$Y = 0,70 X - 2,6$	$Y = 0,64 X - 0,23$	$Y = 0,34 X + 0,4$

\*S.A. : Semaine d'aménorrhée

Si des valeurs plus basses sont ainsi mesurées chez les nouveau-nés prématurés, des valeurs encore plus basses sont également observées chez le nouveau-né à terme et ce, contrairement à toute attente.

Ce constat a nécessité de redéfinir les valeurs seuils. Ces seuils sont actuellement les suivants :

- Nouveau-nés à terme : seuil de « retest » 20 nmol/l – seuil « d'action » 25 nmol/l
- Nouveau-nés prématurés définis comme nés avant 36 semaines d'aménorrhée : seuil de « retest » 35 nmol/l – seuil « d'action » 40 nmol/l

Ces adaptations n'ont pas permis de réduire significativement le nombre de « faux positifs » chez les prématurés, des études complémentaires sont donc nécessaires. L'impact de ces adaptations sur le nombre de faux positifs est actuellement en cours d'étude. Le bénéfice de ce changement pour le dépistage chez les prématurés reste à prouver.

## 3 – Trypsine IR

La première opération de contrôle réalisée par l'AFSSAPS a eu lieu en 2007. Comme en 2007 et en 2008, on observe en 2009 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 International 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 en 2007, en 2008 et en 2009 : le pourcentage d'analyses génétiques demandées, pour les laboratoires utilisant l'une ou l'autre trousse, est similaire et proche de 0,5%.

## Conclusion

Les résultats obtenus lors des opérations du Contrôle national de qualité « dépistage néonatal 2009 » sont globalement satisfaisants. Les réactifs utilisés présentaient une précision correcte et les écarts inter-techniques étaient pour la TSH et la trypsine IR du même ordre que ceux habituellement observés sans nouveau biais.

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