

Annales du Contrôle National de Qualité des Analyses de Biologie Médicale

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

Dépistage néonatal 07DNN1 et 07DNN2

juin et octobre 2007

Edition : juillet 08

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

	07DNN1	07DNN2
Expédition	04/06/07	29/10/07
Clôture	02/07/07	26/11/07
Edition des compte-rendus individuels	06/09/07	5/02/08
Paramètres contrôlés : Echantillons	Phénylalanine : P711 17OH-progestérone : H711 TSH : T711	Phénylalanine P721 17OH-progestérone : H721 TSH : T721 Trypsine IR : M721, M722, M723
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 2007

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 2007, 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 IR (mucoviscidose). Pour la trypsine IR (TIR), il s'agissait d'une première opération.

Au total 27 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 TIR. Lors de l'opération 07DNN2 les résultats individuels des laboratoires concernant la TSH, la 17 OH-progestérone et la phénylalanine ont été, pour la première fois, appréciés en fonction de limites acceptables.

Les résultats observés sont globalement satisfaisants : bonne participation des laboratoires au contrôle national de qualité, utilisation de techniques présentant une précision correcte, démarche identique. De plus, les différences inter-techniques observées pour la TSH et la 17OH-progestérone s'atténuent.

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 des paramètres estimant la dispersion : coefficient de variation tronqué (CV Tr) et espace interquartile. Si l'effectif est supérieur à 6, 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. 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 des tests non paramétriques (test de Kruskal et Wallis, test U de Mann et Whitney). Les résultats sont significativement différents si $p < 0,05$.
- 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 le doser 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 Schleicher et Shüll / 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, 3 échantillons ont été envoyés lors de l'opération 07DNN2.

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

17OH-Progesterone

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

Comme en 2006, deux trousse de dosage ont été utilisées par les laboratoires. Neuf puis huit laboratoires (07DNN1 puis 07DNN2) ont utilisé la trousse 17-OHP-NN Cis bio International et treize puis quatorze laboratoires, la trousse Delfia/AutoDelfia 17 α OHP néo Perkin Elmer.

En 2007, les échantillons envoyés encadraient la zone décisionnelle. Dans cette zone, les CV Tr « tous réactifs » sont d'environ 10% (H711 et H721), ce qui est tout à fait correct compte-tenu du faible volume de sang total (2 μ l) utilisé pour réaliser ce dosage. On peut également noter que les deux trousse présentent une précision (CV Tr) équivalente (différence non significative).

Les résultats obtenus en fonction de la trousse utilisée sont illustrés sur les figures 1 et 2. Pour l'échantillon H711, les 2 trousse donnent des résultats similaires (différence non significative). Pour l'échantillon H721, la médiane des résultats obtenus avec trousse Cis bio International est significativement plus élevée (15%) que la médiane des résultats obtenus avec la trousse Perkin Elmer (Test U de Mann-Whitney, $p < 0,0001$).

L'écart des résultats entre les 2 trousse s'est réduit. En 2004, pour l'échantillon H412 (de concentration équivalente à H711), l'écart était de 26% et en 2005, pour l'échantillon H511 (de concentration équivalente à H721) il était de 37%.

Une interprétation des résultats obtenus était demandée, les interprétations suivantes pouvaient être données :

- Suite au premier résultat :
 - « résultat normal » si le résultat est inférieur à un seuil appelé « 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 ».

L'interprétation finale des résultats par les biologistes (tableau II) est satisfaisante. La seule interprétation en désaccord avec le consensus est une conclusion logique en regard de la stratégie retenue par le laboratoire, avec un seuil de rappel plus bas ce qui explique la réponse « résultat pathologique » rendue pour une valeur en fait proche du seuil.

tableau I – Résultats obtenus pour la 17OH-progesterone.

Opération	Echantillon	Code	Fournisseur	n	Médiane*	mTr*	CV Tr (%)
07DNN1	H711	-	Tous réactifs	33	49,0	48,5	9,8
		AN	Cis bio International	13	49,0	49,5	9,4
		KC	Perkin Elmer	20	49,3	47,8	10,2
07DNN2	H721	-	Tous réactifs	65	104,0	104,2	12,2
		AN	Cis bio International	23	117,0	114,1	10,2
		KC	Perkin Elmer	42	97,1	98,9	10,5

* exprimé en nmol/l de sang total

tableau II – Récapitulatif des interprétations données lors des opérations 07DNN1 et 07DNN2 pour le dépistage de l'HCS.

Opération	Echantillon	Médiane* (nmol/l)	Interprétation consensus	Nb de laboratoires en accord avec le consensus
07DNN1	H711	49,0	résultat normal	21 / 22
07DNN2	H721	104,0	résultat pathologique	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 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). La conclusion « résultat pathologique » doit être rendue lorsque le résultat est supérieur au seuil d'action après contrôle en duplicate.

figure 1 : Diagramme « boîte et moustaches » pour la 17 OH-progesterone lors de l'opération 07DNN1 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.

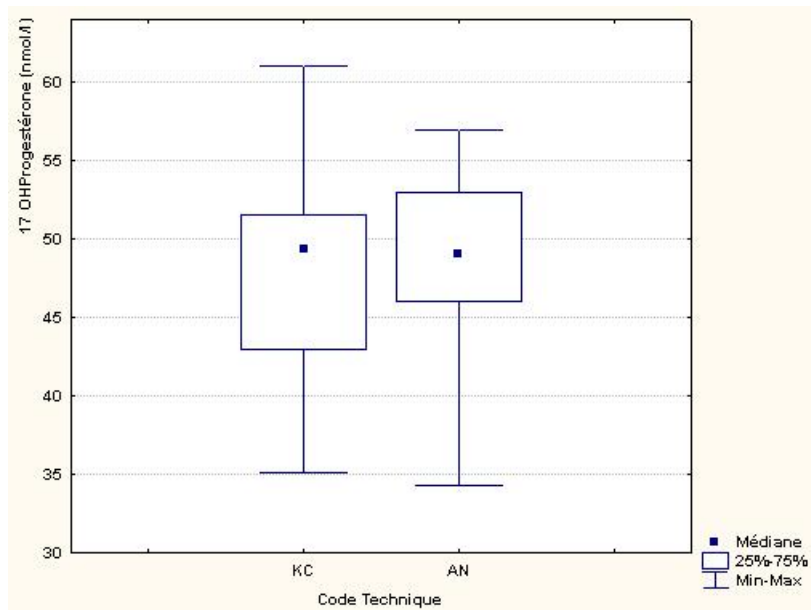
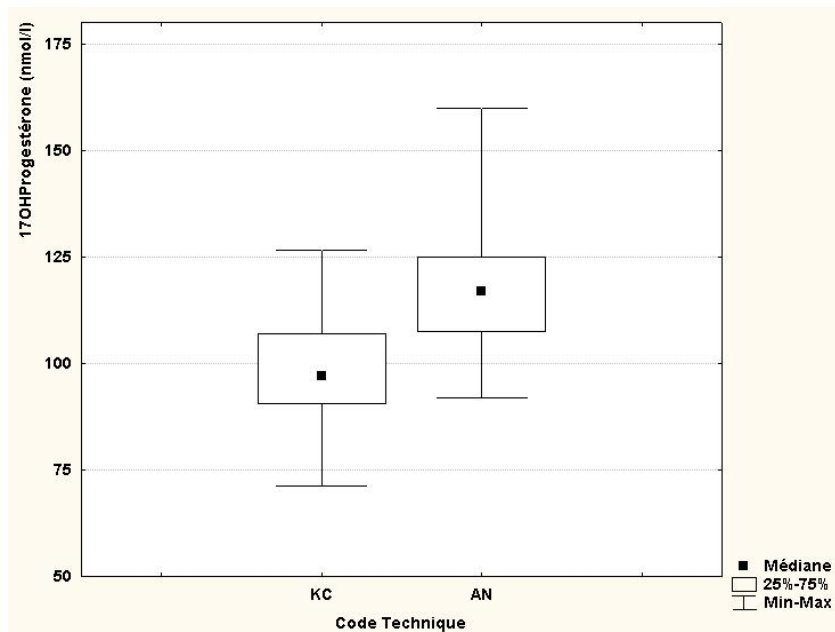


figure 2 : Diagramme « boîte et moustaches » pour la 17 OH-progesterone lors de l'opération 07DNN2 en fonction du réactif utilisé.

La « boîte » représente l'espace interquartile (percentile 75 – percentile 25) avec la médiane (point), les « moustaches » positionnent les valeurs maximales et minimales obtenues.



TSH

Les principaux résultats concernant le dosage de la TSH sur sang séché sont donnés dans le tableau III. Comme pour le dosage de la 17 OH-progesterone, deux trousse de dosage ont été utilisées : la trousse ELSA TSH-NN Cis bio International [AN] et la trousse Delfia/Autodelfia hTSH néo Perkin Elmer [KC].

La précision de chaque trousse est convenable pour la zone contrôlée (entre 20 et 60 mUI/l) avec des CV Tr généralement compris entre 7 et 18%.

Les résultats obtenus, en fonction de la trousse utilisée, sont illustrés sur les figures 3 et 4. Quel que soit le niveau de concentration des échantillons, les résultats diffèrent significativement selon la technique utilisée. La trousse Cis bio International [AN] donne des résultats plus élevés que la trousse Perkin Elmer [KC].

Une action corrective a été 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. Les trousse re-calibrées ont été distribuées à partir de juin 2007. Avant la re-calibration, pour l'échantillon T711, la médiane des résultats rendus avec la trousse Cis bio International est supérieure d'environ 2 fois à la médiane des résultats rendus avec la trousse Perkin Elmer. Après la re-calibration, pour l'échantillon T721, l'écart entre les 2 trousse a diminué.

L'interprétation des résultats par les biologistes (tableau IV) est satisfaisante pour les 2 échantillons avec 21 et 22 réponses sur 22 en accord avec le consensus. La seule interprétation en désaccord avec le consensus est une conclusion logique en regard du résultat obtenu par le laboratoire.

tableau III – Résultats obtenus pour la TSH.

Opération	Echantillon	Code	Fournisseur	n	Médiane*	mTr*	CV Tr (%)
07DNN1	T711	-	<i>Tous réactifs</i>	44	24,8	31,4	36,4
		AN	Cis bio International	18	45,0	44,9	7,6
		KC	Perkin Elmer	26	22,4	22,7	8,4
07DNN2	T721	-	<i>Tous réactifs</i>	63	41,7	44,3	20,2
		AN	Cis bio International	40	59,5	58,7	17,7
		KC	Perkin Elmer	23	38,7	38,7	7,2

* exprimé en mUI/l de sang total

tableau IV – Récapitulatif des interprétations données lors des opérations 07DNN1 et 07DNN2 pour le dépistage de l'HC.

Opération	Echantillon	Médiane* (mUI/l)	Interprétation consensus	Nbre de laboratoires en accord avec le consensus
07DNN1	T711	24,8	Résultat pathologique	21 / 22
07DNN2	T721	41,7	Résultat pathologique	22 / 22

*médiane tous réactifs

NB: les seuils recommandés par l'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.

La conclusion « résultat pathologique » doit être rendue lorsque après contrôle du premier résultat en duplicate, le résultat est supérieur au seuil d'action.

figure 3 : Diagramme « boîte et moustaches » pour la TSH lors de l'opération 07DNN1 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.

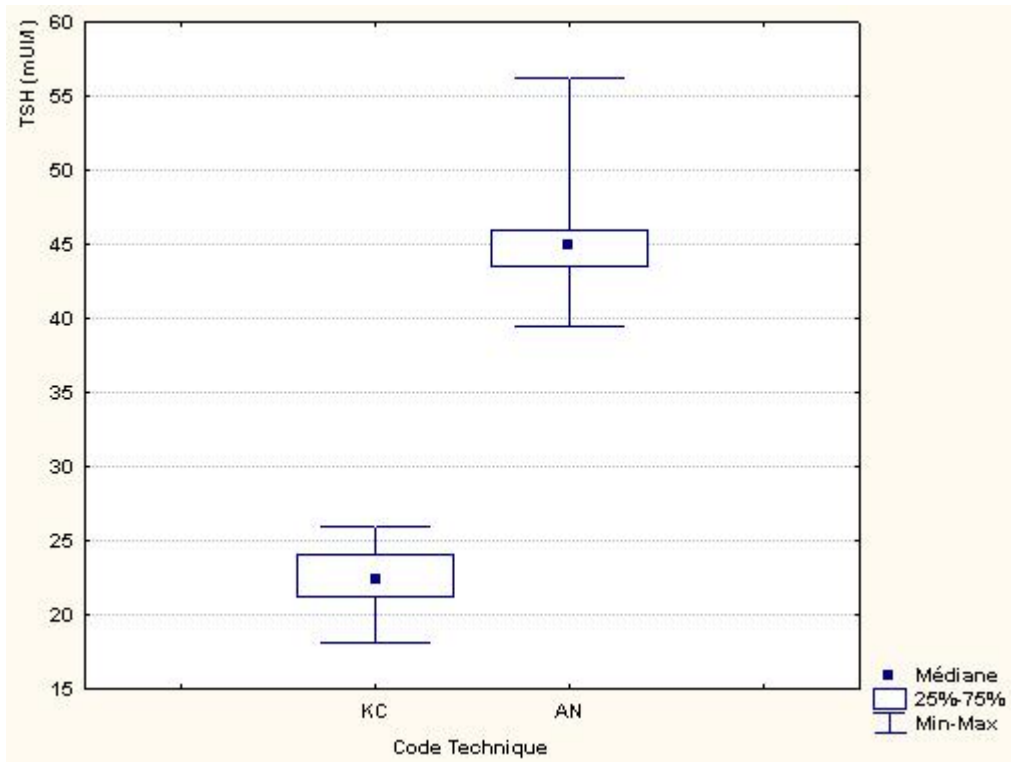
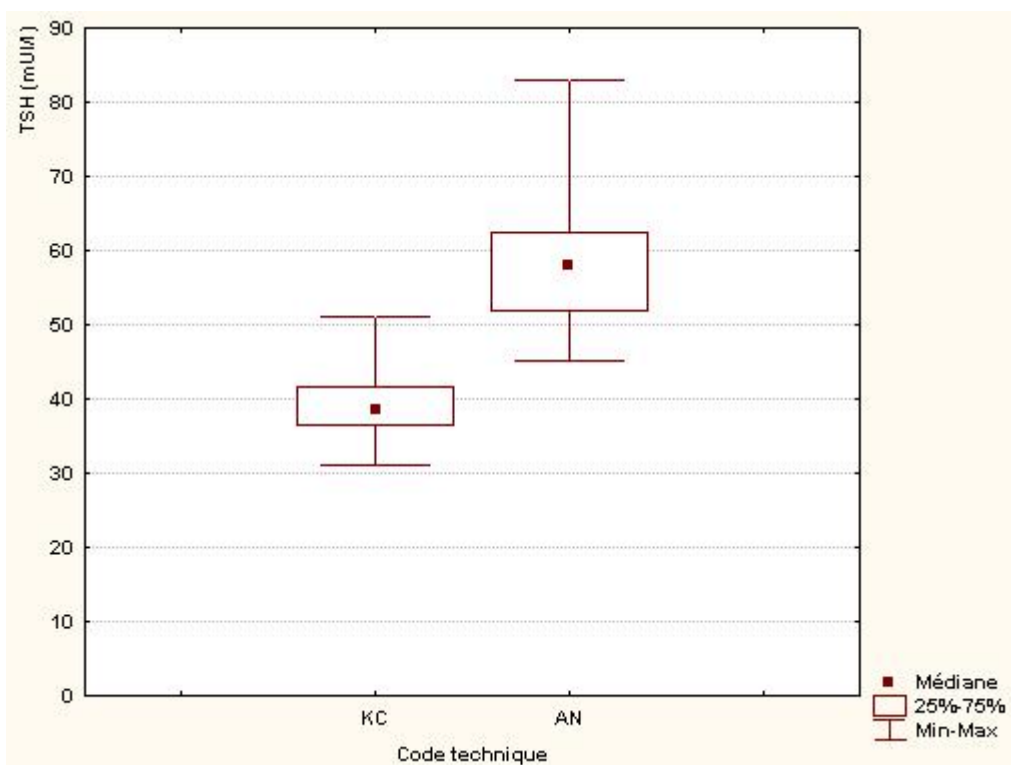


figure 4 : Diagramme « boîte et moustaches » pour la TSH lors de l'opération 07DNN2 en fonction du réactif utilisé. La « boîte » représente l'espace interquartile (percentile 75 – percentile 25) avec la médiane (point), les « moustaches » positionnent les valeurs maximales et minimales obtenues.



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 (07DNN1 : 17 puis 07DNN2 : 18) dosent la phénylalanine grâce à une technique fluorimétrique [6X]. La trousse Quantase neonatal Bio Rad [QU], qui est une méthode enzymatique colorimétrique, est utilisée systématiquement par 4 puis 3 laboratoires. Deux autres laboratoires l'utilisent seulement pour contrôler les résultats du premier dosage.

En 2007, les échantillons envoyés encadraient la zone décisionnelle. Dans cette zone, les CV Tr « tous réactifs » sont d'environ 12% (P711 et P721). De plus, la précision de chaque technique est équivalente et satisfaisante, avec des CV Tr se situant aux alentours de 10 %, sans changement par rapport aux résultats obtenus en 2005 pour des échantillons de concentrations équivalentes.

Les résultats obtenus en fonction de la technique utilisée sont illustrés sur les figures 5 et 6. Pour les 2 échantillons, les résultats sont comparables quelle que soit la technique utilisée. Il faut mentionner que les deux techniques utilisées sont étalonnées avec les mêmes calibrants, dont les valeurs affichées sont contrôlées versus le standard de l'ISNS.

Une interprétation des résultats obtenus était demandée. L'interprétation finale des résultats par les biologistes (tableau VI) 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 V – Résultats obtenus pour la phénylalanine.

Opération	Echantillon	Code	Fournisseur	n	Médiane*	mTr*	CV Tr (%)
07DNN1	P711	-	<i>Tous réactifs</i>	32	147,5	148,7	11,8
		QU	Bio-Rad	7	135,0	139,5	10,7
		6X	manuelle	25	151,0	151,4	11,6
07DNN2	P721	-	<i>Tous réactifs</i>	62	213,5	214,8	12,2
		QU	Bio-Rad	12	198,5	196,9	9,3
		6X	manuelle	50	221,2	219,2	11,9

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

tableau VI – Récapitulatif des interprétations données lors des opérations 07DNN1 et 07DNN2 pour le dépistage de la PCU.

Opération	Echantillon	Médiane* ($\mu\text{mol/l}$)	Interprétation consensus	Nbre de laboratoires en accord avec le consensus
07DNN1	P711	147,5	Résultat normal	20 / 21
07DNN2	P721	213,5	Résultat pathologique	21 / 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 07DNN1 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.

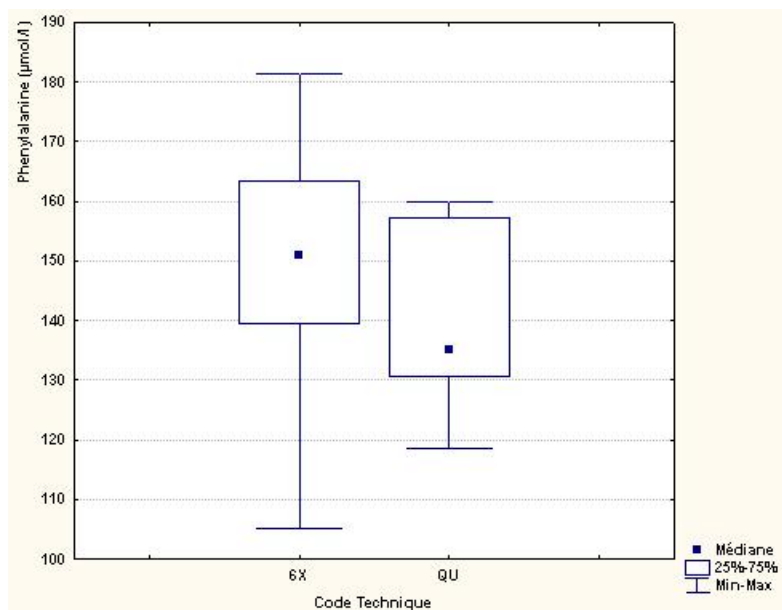
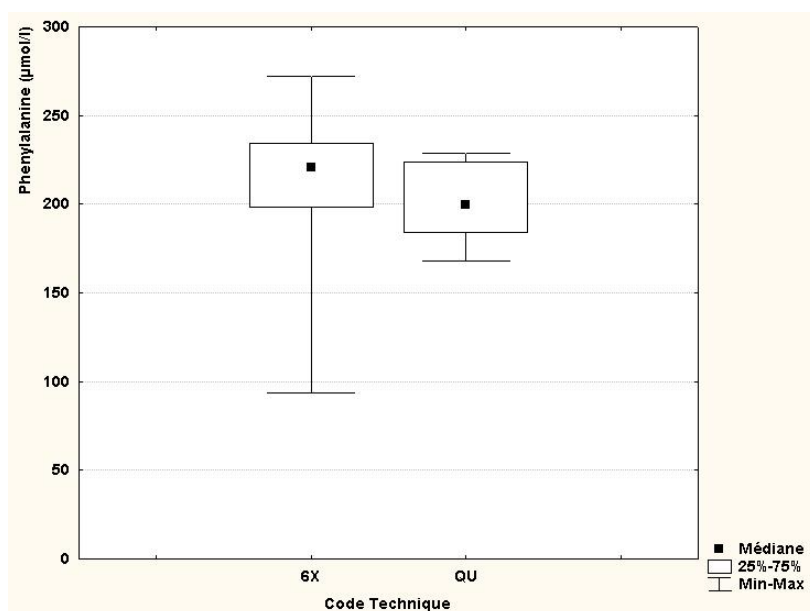


figure 6 : Diagramme « boîte et moustaches » pour la phénylalanine lors de l'opération 07DNN2 en fonction du réactif utilisé. La « boîte » représente l'espace interquartile (percentile 75 – percentile 25) avec la médiane (point), les « moustaches » positionnent les valeurs maximales et minimales obtenues.



Trypsine IR (TIR)

Pour ce paramètre, c'est la première opération organisée par l'Afssaps. 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. Neuf laboratoires ont utilisé la trousse RIA-gnost Trypsin neonatal Cis bio International et treize laboratoires, la trousse Delfia/Autodelfia IRT Perkin Elmer.

En 2007, les 3 échantillons envoyés encadraient la zone décisionnelle, (proche des seuils de retest et d'action). Dans cette zone, les CV Tr « tous réactifs » sont compris entre 16 et 25%. On peut également noter que la précision des 2 trousse (CV Tr) est équivalente (différence non significative). La précision intra-technique inter-laboratoire est comprise, selon le niveau de l'échantillon, entre 6 et 12%, 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, 8 et 9. Quel que soit le niveau de concentration des échantillons, les résultats diffèrent significativement selon la technique utilisée (test de Kruskal-Wallis, $p < 0,001$).

Pour l'échantillon M721, la médiane des résultats obtenus avec la trousse Cis bio International est 33% plus élevée que la médiane des résultats obtenus avec la trousse Perkin Elmer (Test U de Mann-Whitney, $p < 0,0001$).

Pour l'échantillon M722, la médiane des résultats obtenus avec la trousse Cis bio International est 42% plus élevée que la médiane des résultats obtenus avec la trousse Perkin Elmer (Test U de Mann-Whitney, $p < 0,0001$).

Pour l'échantillon M723, la médiane des résultats obtenus avec la trousse Cis bio International est 58% plus élevée que la médiane des résultats obtenus avec la trousse Perkin Elmer (Test U de Mann-Whitney, $p < 0,0001$).

Une interprétation des résultats obtenus était demandée, l'interprétation finale des résultats par les biologistes (tableau VIII) est satisfaisante pour les 2 échantillons pour lesquels une interprétation consensus est possible (M721 et M723). Lorsque les interprétations sont en désaccord avec le consensus, elles correspondent toutefois à une conclusion logique en regard du résultat obtenu par le laboratoire.

Pour l'échantillon M722, 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*	mTr*	CV Tr (%)
07DNN2	M721	-	Tous réactifs	24	38,0	39,7	16,0
		AN	Cis bio International	11	46,0	45,9	7,8
		KC	Perkin Elmer	13	34,6	34,4	5,8
	M722	-	Tous réactifs	52	63,0	67,4	21,3
		AN	Cis bio International	25	81,0	81,4	12,4
		KC	Perkin Elmer	27	57,0	56,1	9,5
	M723	-	Tous réactifs	66	77,6	85,4	25,1
		AN	Cis bio International	25	112,0	112,5	11,3
		KC	Perkin Elmer	41	70,8	71,6	10,4

* exprimé en µg/l de sang total

tableau VIII – Récapitulatif des interprétations données lors de l'opération 07DNN2 pour la TIR.

Opération	Echantillon	Médiane* (µg/l)	Interprétation consensus	Nb de laboratoires en accord avec le consensus
07DNN2	M721	38,0	Résultat normal	22 / 22
	M722	63,0	Pas de consensus	-
	M723	77,6	Résultat pathologique	20 / 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 (échantillon M721) lors de l'opération 07DNN2 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.

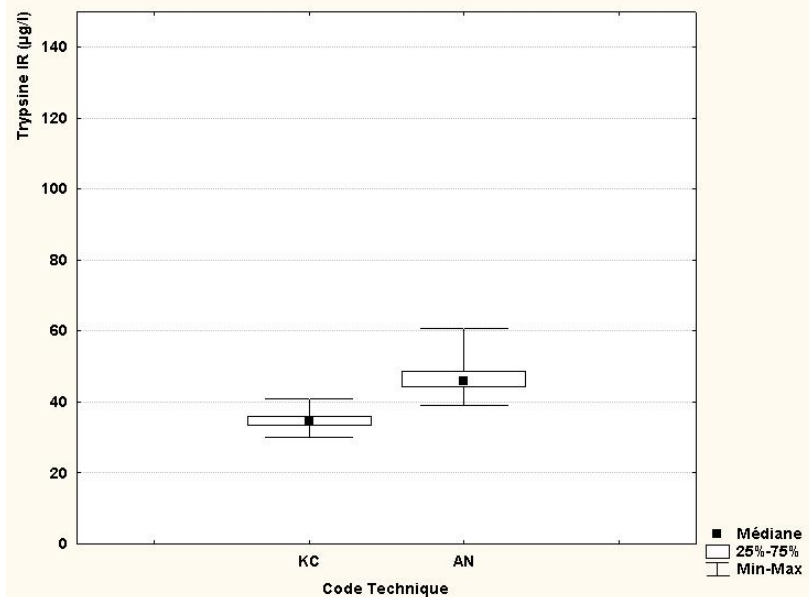


figure 8 : Diagramme « boîte et moustaches » pour la trypsine IR (échantillon M722) lors de l'opération 07DNN2 en fonction du réactif utilisé. La « boîte » représente l'espace interquartile (percentile 75 – percentile 25) avec la position de la médiane (point), les « moustaches » positionnent les valeurs maximales et minimales obtenues.

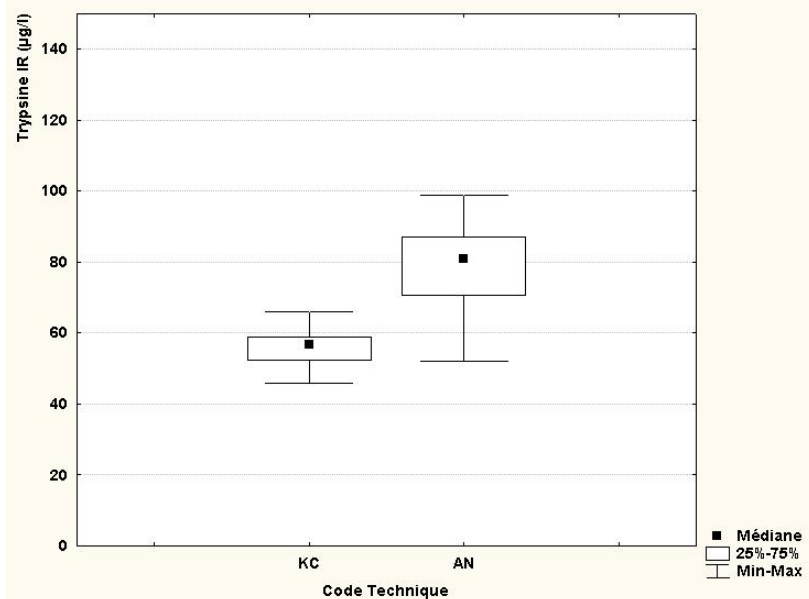
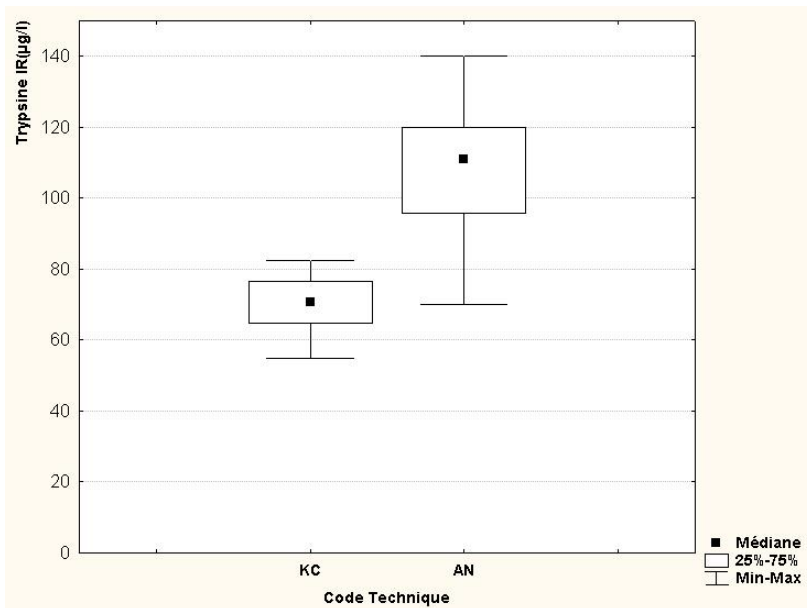


figure 9 : Diagramme « boîte et moustaches » pour la trypsine IR (échantillon M723) lors de l'opération 07DNN2 en fonction du réactif utilisé. La « boîte » représente l'espace interquartile (percentile 75 – percentile 25) avec la position de la médiane (point), les « moustaches » positionnent les valeurs maximales et minimales obtenues.



Evaluation des résultats individuels par des limites acceptables

Pour mieux apprécier les résultats obtenus par chaque laboratoire, des limites acceptables (LA) ont été définies. Elles tiennent compte à la fois des performances analytiques des réactifs contrôlés et de l'interprétation clinique.

La figure 10 illustre le mode d'évaluation d'un résultat (R) rendu par un laboratoire. Il prend en compte :

- une valeur cible M (médiane obtenue pour la même technique)
- une limite acceptable (LA).

L'écart relatif entre le résultat R et la cible M est calculé grâce à la formule suivante : $(R-M)*100 / M$ puis comparé à la LA appliquée. Il est exprimé sous forme de lettres (A, B, C, D) et le sens de l'écart est indiqué par le signe « + » ou « - ».

Un résultat est considéré comme acceptable (« bon résultat ») s'il ne s'écarte pas de la cible de plus d'une LA. Au-delà, le résultat est considéré comme « à contrôler ». Plus précisément :

- pour un écart inférieur à 0,5 LA, le résultat est évalué en A, A+ ou A-
- pour un écart compris entre 0,5 et 1 LA, le résultat est évalué en B+ ou B-
- pour un écart compris entre 1 et 2 LA, le résultat est évalué en C+ ou C-
- pour un écart supérieur à 2 LA, le résultat est évalué en D+ ou D-

Les LA appliquées lors de l'opération 07DNN2 sont regroupées dans le tableau IX.

Seul le résultat du dosage initial est évalué. Les résultats des éventuels « retests » ne sont pas évalués.

Les résultats sont satisfaisants avec

- 86,4% de « bons résultats » (résultats évalués en « A » ou en « B ») pour la TSH,
- 81,8% pour la 17 OH-progesterone
- 95,5% pour la Phénylalanine.

Les résultats de la trypsine IR, contrôlée pour la première fois, n'ont pas été évalués.

L'évaluation des résultats par rapport aux limites acceptables figure sur les compte-rendus individuels adressés aux laboratoires.

figure 10 – Méthode d'évaluation du résultat d'un laboratoire.

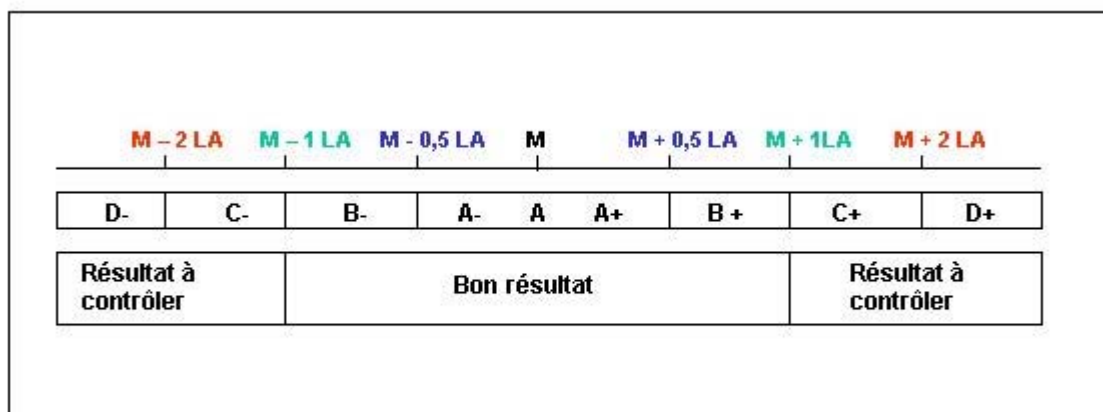


tableau IX – Limites acceptables appliquées lors de l'opération 07DNN2.

	Echantillons		
	T721	H721	P721
TSH	20%	-	-
17 OH-progestérone	-	20%	-
Phénylalanine	-	-	30%

Commentaires sur les résultats de TSH et de Trypsine IR

1 – Evolution des résultats de TSH

Les données recueillies par le contrôle national de qualité 2004 et 2005 (cf. annales DNN 2004 et 2005) avaient mis en évidence des discordances inter-techniques importantes, difficilement conciliables avec l'utilisation clinique de cette analyse. Suite à ces observations, l'Afssaps a sollicité de la part des fabricants des deux dispositifs impliqués, la mise en place de mesures correctives : recalibration des trousse en regard du standard préparé par l'International Society of Neonatal Screening, ISNS. La société Cis bio International s'est engagée en mai 2007 à re-standardiser son réactif à partir du mois de juin 2007. L'Afssaps continue d'accompagner la société Perkin Elmer pour la mise en conformité de son dispositif. Rappelons que la trousse Perkin Elmer sous-estimait légèrement le standard International.

Après l'action correctrice menée par la société Cis bio International, l'écart entre les 2 trousse s'est resserré.

Depuis juin 2007 l'étude du pourcentage de prélèvements présentant des résultats supérieurs au « seuil d'action » montrent que pour les laboratoires utilisant la trousse Cis bio International, le % d'échantillons au-dessus du seuil d'action a diminué. Il passe ainsi de 0,58% lors du premier trimestre 2007 à 0,16% lors du troisième trimestre 2007 (Commission technique de l'AFDPHE).

2 – Trypsine IR

L'évaluation externe de la qualité étant inscrite dans la convention liant l'AFDPHE et la Cnamts, l'Afssaps a été sollicitée pour organiser une évaluation externe des résultats de TIR. La première opération de contrôle a eu lieu en 2007. Néanmoins, il faut signaler que l'AFDPHE avait inscrit les laboratoires au programme international IRTIQAS (IRT International Quality Assurance Scheme), piloté par le laboratoire de dépistage de Caen.

Le dépistage de la mucoviscidose repose sur une stratégie comportant une mesure de TIR en première intention, contrôlée par une analyse génomique (recherche des principales mutations du gène CFTR), réalisée sur le même prélèvement, si la TIR est supérieure à la valeur seuil. L'analyse génomique est réalisée lorsque la TIR mesurée est supérieure au 99,5^e percentile correspondant au seuil actuel de 65 µg/l.

Sous le terme de TIR, on regroupe un ensemble de molécules qui ont en commun d'être reconnues par divers anticorps développés contre la trypsine humaine cationique ou trypsine-1.

La TIR est une protéase issue de l'activation d'un trypsinogène produit par le pancréas. Le pouvoir protéolytique de la trypsine est trop intense pour lui permettre de circuler isolément dans le sang. Elle est donc présente dans le sérum, liée à des inhibiteurs de protéases (α 1-antitrypsine et α 2-macroglobuline).

Les trousse de dosage de la TIR utilisent des anticorps qui reconnaissent de façon variable les épitopes présents sur les différentes formes moléculaires de la TIR. Seuls des échantillons utilisant du sang d'enfants atteints de mucoviscidose seraient parfaitement représentatifs des formes moléculaires de TIR présentes à cet âge et pour cette pathologie. Ces échantillons ne pouvant être utilisés, les échantillons proposés lors de cette opération sont des dépôts, sur papier buvard, de sang total ajusté à une concentration donnée avec de la trypsine commerciale. Comme il n'existe pas à ce jour, de préparation de référence permettant de standardiser les dosages, de grandes variations inter-techniques sont inévitables. Elles sont liées d'une part, à l'utilisation par les trousse d'anticorps différents qui ne reconnaissent pas forcément les mêmes épitopes ; et d'autre part, à la présence obligatoire d'inhibiteurs de protéases au niveau des calibrants. Ces inhibiteurs peuvent masquer certains épitopes et donc modifier la reconnaissance antigène-anticorps.

Avant de lancer le programme national de dépistage de la mucoviscidose, l'AFDPHE a recommandé l'utilisation de deux trousse après harmonisation des matériels utilisés pour la calibration. Cette procédure d'harmonisation a permis une expression unique des résultats et la définition d'une valeur seuil unique.

L'étude des paramètres caractéristiques de la distribution des valeurs observées dans la routine du dépistage (moyenne, pourcentage d'analyses génétiques demandées...) est une autre façon de contrôler la stabilité analytique des systèmes de dosage utilisés. Ces paramètres sont sous la surveillance de la Commission Technique de l'AFDPHE. En effet, les laboratoires de dépistage fournissent chaque mois la distribution des valeurs de TIR observées chez tous les nouveau-nés testés et le nombre d'analyses génétiques réalisées. L'analyse centralisée des distributions des valeurs de TIR obtenues avec les deux trousse n'a montré aucun décalage significatif, et le pourcentage d'analyses génétiques demandées, pour les laboratoires utilisant l'une ou l'autre trousse, est similaire. Comme les distributions des valeurs de TIR obtenues avec les deux trousse sont superposables, on peut donc raisonnablement penser que l'utilisation d'anticorps différents n'a pas d'incidence notable pour la reconnaissance des espèces de TIR contenues dans le sang des nouveau-nés sains ou atteints de mucoviscidose.

Les résultats observés pendant l'opération 07DNN2 confirment que l'antigène utilisé pour la fabrication des échantillons est, de toute évidence, reconnu différemment par les anticorps des trousse Cis bio international et Perkin Elmer.

Grâce aux données du contrôle national de qualité, le laboratoire doit pouvoir comparer ses résultats à ceux obtenus par l'ensemble des participants. Il est clair que dans le cas présent, seules d'éventuelles distorsions de réponse par rapport au groupe utilisateur pourraient être mises en évidence.

Conclusion

Les résultats des laboratoires impliqués dans cette activité sont globalement satisfaisants avec :

1. Une implication forte des laboratoires aux opérations de contrôle (participation de 100% pour les 2 opérations de 2007).
2. Le suivi d'une démarche identique par tous les laboratoires et une interprétation cohérente des résultats.
3. L'utilisation de réactifs présentant une précision correcte

Il faut cependant noter :

L'existence de différences inter-méthodes plus ou moins marquée, pour la mesure de la TSH, et de la 17 OH-progestérone. Ces différences se sont toutefois atténuées.

A contrario, on peut constater l'absence de différence inter-technique pour la mesure de la phénylalanine.