



Compte-rendu Temps d'échange des techniciens sur la drépanocytose

Mardi 29 Avril 2025 – Teams

Programme 14h00 – 16h00

- **Présentation des participants de chaque CRDN**
- **Chiffres clés de la drépanocytose et répartition des différentes techniques**
- **Sujets abordés :**
 - Problèmes rencontrés lors de la technique
 - *Electrophorèse capillaire (Sebia - Capillarys)*
 - *Maldi-TOF (Shimadzu)*
 - *Iso Electro Focalisation (Revvity)*
 - *HPLC (Biorad)*
 - *LCMSMS (Lacar)*
 - Utilisation de Voozanoo
 - *Validation des profils*
 - Gestion de la seconde intention
 - *Gestion des « en-cours »*
- **Discussion / Questions**

Prochaine réunion : 1^{er} trimestre 2026

La réunion s'est ouverte sur les objectifs de la mise en place de ces nouveaux temps d'échange technique : échanger sur les difficultés et les façons de faire.

- **Présentation des participants de chaque CRDN**

Un tour de table a été effectué pour identifier les centres présents et les techniques de dépistage néonatal de la drépanocytose qu'ils utilisent en première et seconde intention.

Centre	1^{ère} intention	2^{ème} intention
Tours	Capillarys 3 DBS	IEF
Lille	Maldi-TOF	HPLC
Reims	Capillarys 3 DBS	IEF passage au VNBS
Lyon	Capillarys 3 DBS	LC-MS/MS - Lacar
Grenoble	Capillarys 3 DBS	Envoi à Lyon
Marseille	Maldi-TOF	HPLC
Montpellier		
Toulouse	Capillarys 3 DBS	Envoi à Marseille
Nantes	Capillarys 3 DBS	Envoi à Lille
Caen	Capillarys 3 DBS	Envoi à Lille
Paris S^t Denis	HPLC	IEF
Paris Robert Debré	Maldi-TOF	HPLC
Guadeloupe	HPLC	IEF
Martinique		
Bordeaux	Maldi-TOF	HPLC (à partir du 5 mai)
Dijon	Capillarys 3 DBS	Envoi à Lille

- **Chiffres clés de la drépanocytose et répartition des différentes techniques**

Une présentation a été faite abordant les chiffres clés de la drépanocytose et la répartition des techniques utilisées en France (cf. Diapo).
L'incidence globale de la drépanocytose et l'incidence ciblée ont augmenté entre 2014 et 2023.

La médiane du délai de prise en charge pour le diagnostic était de 54 jours après la naissance en 2023, mais on s'attend à une réduction en 2024 car davantage de centres sont équipés pour le dépistage direct.

Il a été noté que le nombre total de syndromes drépanocytaires majeurs diagnostiqués sur une période similaire (1^{er} novembre au 11 décembre) en 2023 (population ciblée) et 2024 (population générale) est assez comparable.

Les techniques utilisées en France se répartissent en deux catégories :

- selon la masse
 - Maldi-TOF – Shimadzu
 - LCMSMS – Lacar
- selon la charge
 - Électrophorèse capillaire Capillarys – Sébia
 - HPLC – Biorad
 - Isoélectrofocalisation – Revvity



Depuis la mise en place du dépistage de la drépanocytose, la répartition des techniques a montré une évolution : alors que le Maldi-TOF était principalement utilisé en 2023, depuis 2024 on constate une augmentation de l'utilisation du Capillarys et de HPLC.

- **Sujets abordés**

La discussion s'est ensuite concentrée sur les problèmes rencontrés avec les différentes techniques.

- **Problèmes rencontrés lors de la technique**

- **Electrophorèse capillaire (Sebia – Capillarys)**

- Problèmes sur un lot particulier AFSC

Un centre a rencontré un problème avec un lot d'AFSC. Cela s'est résolu sur le lot suivant.

- Problèmes de capillaires – diminution de DO

Des problèmes de capillaires et de diminution de DO ont été remontés, des profils sont décalés. Les problèmes ont été résolus suite à une intervention de Sebia (recalibration par le SAV ou changement du monochromateur). Sur un autre centre, ce problème a été résolu avec une activation des capillaires.

Un centre a eu moins de problèmes de DO après une mise à jour logicielle.

⇒ Selon le SAV, le problème qui devrait être résolu avec la nouvelle version du logiciel (nouvelle maintenance nécessaire tous les 4-5 mois).

- Problèmes lors de déchargement de plaque

Des soucis suite à la mise à jour logicielle ont été rapportés (mise à jour il y a un mois et demi, pannes fréquentes dues à des problèmes de calibration automatique : non-détection des plaques au déchargement).

D'autres centres ont eu des problèmes de non-déchargement ou de non-détection des plaques de contrôle (début/fin de série), bloquant l'extinction automatique et altérant les capillaires.

- Non-détection de volume des réactifs

Des problèmes de non-détection des volumes de réactifs secondaires ont été mentionnés au démarrage ou même parfois en milieu de série (puces des flacons), nécessitant parfois un redémarrage de l'automate.

- Pannes fréquentes

Des pannes fréquentes ont été signalées, allant jusqu'à une fois par semaine voir quotidiennement (mouvements de bras, plateaux).

Plusieurs pièces ont déjà été changées dans un centre (pièce de déchargement, disque dur, carte mère). Des problèmes de capillaires dus à une mauvaise extinction ont nécessité des réactivations mais qui n'ont pas fonctionné. Des cycles de réactivations ont dû être effectué 2 fois de suite avec le SAV au téléphone pour permettre un redémarrage.

Ces problèmes ont conduit certains centres à ne plus lancer d'analyses la nuit.



⇒ **Le SAV a été jugé plutôt réactif par téléphone par plusieurs centres.**

➤ Stratégie des contrôles

La stratégie de contrôle a été discutée :

- 1 contrôle AFSC en début de série
- 1 contrôle AFSC est positionné en début et 1 en fin de plaque
- 6 contrôles AFSC au début et 6 à la fin de chaque plaque pour tester tous les capillaires suite à tes soucis rencontrés lors de contrôle non interprétable en début et fin de plaque.
- 1 contrôle AFSC par plaque en changeant de puits pour couvrir les 12 capillaires en changeant le plan de plaque sur le puncher DBS chaque jour.

L'utilisation d'un contrôle AFSC "maison" sur buvard pour avoir un contrôle sur même support a été présentée. Ce contrôle est utilisé en fin de plaque.

Préparation :

- 200µL d'eau dans un flacon d'AFSC
- Aliquotage en 33µL conservé à -20°C
- Dépôt d'une tâche sur buvard (stabilité 1 semaine)

➤ Utilisation du Capillarys 2

Pour les centres utilisant le Capillarys 2 avant, il y avait moins de problèmes rencontrés mais également moins de débit car il était utilisé seulement en seconde intention.

➤ Bruit de fond présent sur les buvards avec des transports trop longs

Des problèmes liés aux prélèvements avec des délais de transport longs ont entraîné des profils moins nets, avec un bruit de fond plus élevé et de petits pics parasites. Certains ont tenté l'incubation prolongée dans une chambre humide réfrigérée pendant une nuit avec succès variable selon les délais et origines des prélèvements.

➤ Contamination lors de l'agitation des plaques

Un risque de contamination des puits lors de l'agitation des plaques a été évoqué. La vitesse d'agitation différente selon les centres (900 RPM vs 1345/1350 RPM recommandé) a été mentionnée comme piste.

➤ Gestion des réactifs

Des questions ont été soulevées sur la gestion des réactifs : savoir jusqu'où l'automate utilise les solutions, non-indication claire du manque d'un produit. Il est difficile de connaître le volume restant.

Lors d'une formation, Sebia a annoncé un volume mort de 20% pour le tampon de lavage mais d'autres centres descendent plus bas (12%).

La solution hémolysante ne fonctionne plus sous 14% (estimation de 10% de consommation par plaque).

Recharger en milieu de manip est possible mais prend beaucoup de temps.

➤ Gestion des déchets : cyanure dans la composition de la solution hémolysante

La composition de la solution hémolysante (présence de cyanure) et le traitement des déchets associés sont une préoccupation. Des centres évaporent sous hotte puis jette dans filière produits toxiques, ainsi que les restes liquides. Sebia a proposé une

procédure de désactivation avec 1 volume de tampon Sebia pour 2 volumes de javel, laisser 30 min pour désactiver les ions cyanures (procédure Capillarys 2). Un centre utilise des films à coller sur les plaques usagées.

▪ **Maldi-TOF (Shimadzu)**

➤ Différence de profils entre les anciens et nouveaux Maldi-TOF.

Des différences de profils ont été observées entre les anciens appareils Bruker et les nouveaux Shimadzu, mais cela n'empêche pas l'interprétation.

L'HbA est plus élevée sur les Bruker comparée au Shimadzu, l'interprétation est faite en fonction de l'origine du nouveau-né.

➤ Stockage des buvards

Le stockage des buvards avec dessiccant n'est pas jugé essentiel pour le court terme, mais recommandé pour le long terme (1 an).

Repasser d'anciens buvards donne des profils moins jolis mais interprétables.

➤ Problèmes d'intensité basse liés au TECAN

Des alertes d'intensité faible posent problèmes, ils sont fréquemment liés au Tecan (robot de dépôt) qui ne prend pas toute la tâche, résultant en moins de matière. La solution est de repasser l'échantillon, mais cela est chronophage pour les centres à gros débit. L'intervention sur le Tecan est jugée moins rapide que celle de Biomaneó. Des soucis ont été rencontrés avec la gestion des pointes (embouts) par le Tecan, notamment sur les derniers étages.

➤ Pics A larges

Des pics A larges ("FA large") dus à l'encrassement ou aux réglages laser/signal peuvent causer de fausses alertes (FAS), nécessitant une intervention (souvent à distance par Biomaneó).

▪ **Isoélectrofocalisation (IEF, Revvity)**

La technique est globalement jugée satisfaisante, offrant la possibilité de faire essentiellement de la manipulation.

➤ Difficulté de trouver des pièces détachées hors kit Revvity

Le principal problème remonté est la difficulté à trouver des pièces détachées, notamment une cuve de refroidissement de rechange dans le commerce pour les modèles plus anciens, poussant des centres à changer de technique pour la deuxième intention.

L'acquisition de nouvelles pièces peut nécessiter un kit complet car les nouvelles pièces Revvity ne sont pas compatibles entre elles sauf avec le générateur.



➤ Adaptation pour les adultes

L'adaptation du Variant NBS pour les adultes (initialement conçu pour les buvards de nouveau-nés) a été évoquée, bien que d'autres centres utilisent le Variant 2 pour les adultes.

▪ **HPLC (Biorad)**

Aucun problème majeur général n'a été signalé

➤ Temps de rétention décalé liés à un mauvais lot de réactifs

Un souci a été rencontré récemment avec un lot de réactifs qui donnait des temps de rétention décalés.

Le fournisseur a contacté les centres utilisateurs après signalement et a envoyé un nouveau lot.

➤ Contrôles non conformes après décontamination

Après une décontamination (faite une ou deux fois par mois selon les centres), certains centres ont du mal à retrouver une aire de contrôle suffisante (basse) nécessitant de repasser les contrôles plusieurs fois et potentiellement d'appeler le SAV.

Certains centres passent automatiquement 2 primer en plus de celui de la plaque (3 en tout).

La marque ou la concentration de la javel utilisée pour la décontamination a été suggérée comme une piste de problème possible (javel de l'hôpital diluée à 2,6%).

➤ Contrôles non conformes après SAV

Des contrôles non conformes sont aussi apparus après un passage du SAV, surtout pour le pic S.

▪ **LCMSMS (Lacar)**

Seul un centre utilise cette technique.

Elle fonctionne bien et ne pose pas de problème particulier.

La principale difficulté signalée est l'étape de création des listes de travail, jugée un peu plus compliquée.

○ **Utilisation de Voozanoo**

▪ **Validation dans Voozanoo**

La validation des profils se passe généralement bien.

➤ Problème lors des saisies manuelles

Un problème a été soulevé concernant la saisie manuelle ou la recherche de buvards : des filtres par défaut se mettent en place automatiquement rendant difficile la recherche sans enlever tous les filtres.

- **Gestion de la seconde intention**

- **Gestion des « en-cours »**

Concernant la gestion des "en cours" (échantillons en attente du résultat de deuxième intention) : certains utilisent un filtre dans Voozanoo pour afficher les profils validés comme différents de FA. D'autres utilisent une feuille de travail manuelle ou un système informatisé. Le risque d'oubli avec la méthode manuelle a été évoqué.

- **Module « en-cours » globale peu pratique**

L'outil "en cours" dans Voozanoo a été jugé peu pratique car il ne permet pas de filtrer par maladie, ce qui surcharge la liste (notamment avec les résultats HB) et rend difficile le suivi des autres pathologies.

Il a été suggéré d'ajouter des codes couleurs pour les statuts de validation (administratif, technique, biologique) afin de mieux visualiser les échantillons nécessitant une action ou de pouvoir filtrer par maladie.

- **Perte d'information entre Voozanoo et le centralisateur**

Un participant a soulevé le problème de la perte d'information dans Voozanoo après la validation finale, lorsque des commentaires sur les détails des pourcentages anormaux (ex: pourcentage de A trop élevé/bas) ou des suspicions (ex: transfusion) sont ajoutés. L'ajout de commentaires est pratiqué mais leur visibilité dans le centralisateur est incertaine.

Pour conclure la réunion, une proposition a été faite de créer un groupe d'échange (Teams) entre les centres pour partager les problèmes rencontrés entre les réunions annuelles. Cette idée a reçu un accueil très favorable, les participants y voyant un moyen de s'entraider. L'idée de se regrouper par technique ou automate a été suggérée pour des échanges plus pertinents.