

Annales du Contrôle National de Qualité des Analyses de Biologie Médicale

Electrophorèse des protéines
Recherche d'immunoglobuline monoclonale
Anticorps anti-nucléaires

Stéphanie ALBAREDE (Afssaps)
Alain DAUNIZEAU (CH - Lens)
Jacques DE GRAEVE (CHU – Toulouse)
Bach-Nga PHAM (INTS - Paris)

Expédition : 05/02/09

Clôture : 02/03/09

Edition des comptes-rendus individuels : 09/06/09

Paramètres contrôlés : **09G9 – Electrophorèse des protéines (fractions en %)**

Recherche d'immunoglobuline monoclonale

09G8 – Anticorps anti-nucléaires

Nombre de laboratoires concernés* : 2283

Nombre de laboratoires participants** : 2194

* 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 de l'opération

L'opération 09AT11 a concerné les laboratoires ayant déclaré pratiquer l'électrophorèse des protéines et/ou la recherche d'immunoglobuline monoclonale (échantillon 09G9) et/ou la recherche d'anticorps anti-nucléaires (échantillon 09G8).

L'échantillon 09G9 est un sérum normal ne contenant pas d'immunoglobuline monoclonale. Concernant les fractions, en pourcentage, de l'électrophorèse des protéines, on observe des coefficients de variation stables par rapport aux contrôles précédents, voire une amélioration pour la fraction alpha-2 globulines. Concernant l'analyse du tracé électrophorétique et son interprétation, on note, bien qu'il s'agisse d'un sérum normal, un nombre non négligeable de réponses erronées et d'incohérences entre les deux réponses.

Dans le cadre de la recherche d'immunoglobuline monoclonale, on observe un taux faible de résultats faussement positifs (0,4%). On remarque que 0,5% des laboratoires testeraient à tort, en absence totale de bande de précipitation avec des sérums anti-chaînes légères au niveau du tracé, les sérums anti-IgD et anti-IgE. En effet, aucune maladie des chaînes lourdes epsilon ou delta n'a été décrite à ce jour.

L'échantillon 09G8 ne contient pas d'anticorps antinucléaires. Cet échantillon n'a pas posé de problème particulier. On observe 94% de bonnes réponses pour le dépistage en immunofluorescence indirecte sur cellules HEp2, 100% de bonnes réponses pour la recherche d'anticorps anti-ADN natif et 99% de bonnes réponses pour la recherche d'anticorps anti-antigènes nucléaires solubles.

Méthode statistique et expression des résultats

1 – Electrophorèse des protéines

Pour les résultats quantitatifs (fractions protéiques en %), l'analyse statistique a comporté les étapes suivantes, appliquées à l'ensemble des résultats et à l'intérieur de chaque groupe technique :

- élimination des valeurs aberrantes (ex : erreurs grossières de type erreur d'unité, de transcription...) sur l'effectif non tronqué (N) par la méthode de Tuckey.
 - calcul de la valeur cible, c'est-à-dire moyenne (m) obtenue après double troncature à deux écarts-types ; cette double troncature permet d'éliminer les valeurs extrêmes ; la valeur cible obtenue est toujours très proche de la médiane.
 - l'écart-type (s) et le coefficient de variation (CV) obtenus après cette double troncature sont considérés comme représentatifs de la dispersion des résultats.
 - ces calculs sont réalisés si l'effectif du groupe est suffisamment représentatif ($N \geq 10$).
- Pour évaluer la qualité des résultats rendus par chaque laboratoire, l'écart entre la valeur rendue et la valeur cible est apprécié en fonction de limites acceptables (LA) :
- ces LA sont obtenues en appliquant à la valeur cible des pourcentages d'acceptabilité (tableau I) qui tiennent compte à la fois d'objectifs analytiques et d'exigences cliniques ;
 - ces LA ont été déterminées d'après les travaux du Groupe SFBC « *Normes de validation du protocole de validation de techniques* » publiés dans les Annales de Biologie Clinique (*Ann. Biol. Clin.*, 1999, 57 : 685 - 695).

tableau I - pourcentages d'acceptabilité

Analyse	Pourcentages d'acceptabilité
Protéinogramme (fractions en %)	
Albumine	± 12%
α1-globulines	± 30%
α2-globulines	± 20%
β-globulines	± 20%
γ-globulines	± 20%

2 – Titrage des anticorps anti-nucléaires.

La médiane des titres obtenus sur cellules HEp2 a été calculée à partir des titres en inverse de dilution.

Echantillon 09G9

Electrophorèse des protéines - Recherche d'immunoglobuline monoclonale

Le nombre de laboratoires ayant effectué au moins une des analyses sur l'échantillon 09G9 est de 1691 (contre 1856 en 2008).

La répartition selon les analyses est la suivante :

- 1186 laboratoires ont effectué l'électrophorèse des protéines et la détection/caractérisation d'une immunoglobuline monoclonale,
- 488 laboratoires ont effectué uniquement l'électrophorèse des protéines,
- 17 laboratoires ont effectué uniquement la détection/caractérisation d'une immunoglobuline monoclonale.

Définition de l'échantillon

L'échantillon 09G9 était un sérum liquide d'origine humaine.

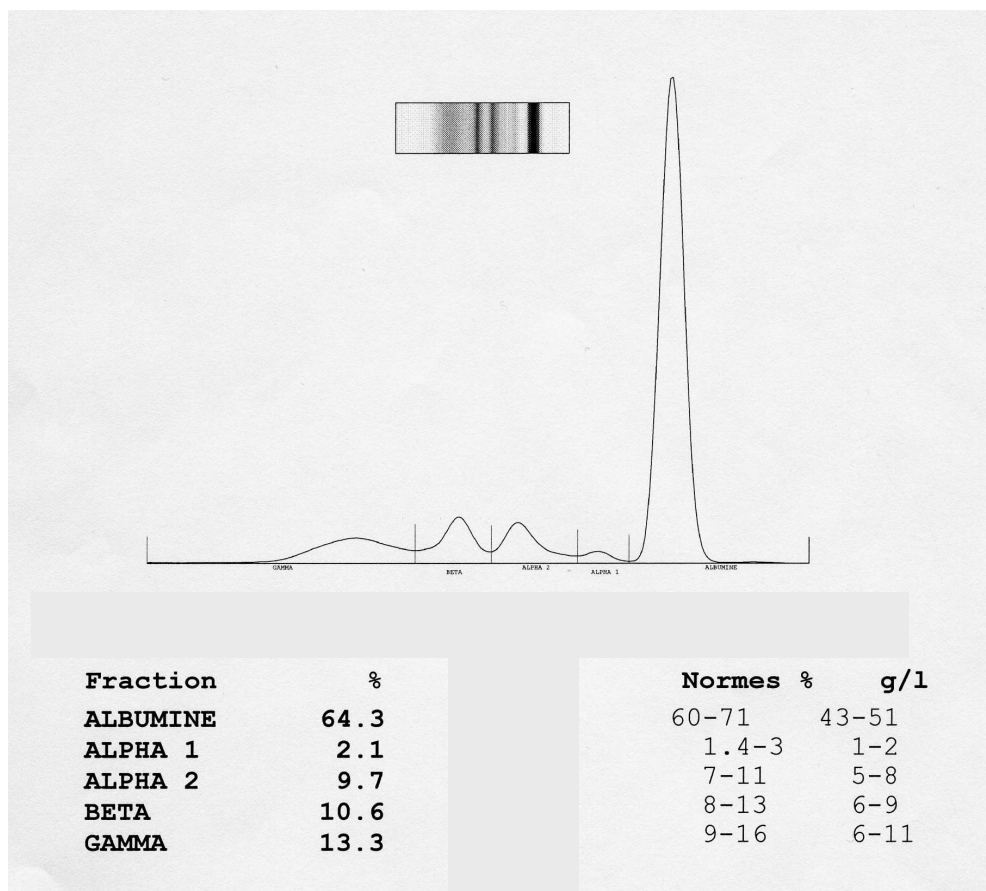
Les commentaires des experts figurent aux paragraphes 1 et 2 ci-dessous :

Dr J. Bienvenu (C.H. Lyon Sud- Lyon - 69), Dr A. Chevaillier (C.H.U. - Angers - 49), Dr J. De Graeve (C.H.U. Rangueil - Toulouse - 31), Dr A. Daunizeau (C.H. Schaffner - Lens - 62), Dr J.M. Gombert (Hôpital de la Milétrie - Poitiers - 86).

1 - Electrophorèse des protéines

- **Réponses attendues, obtenues à partir des réponses des experts** : Electrophorèse des protéines d'aspect normal. (figure 1)

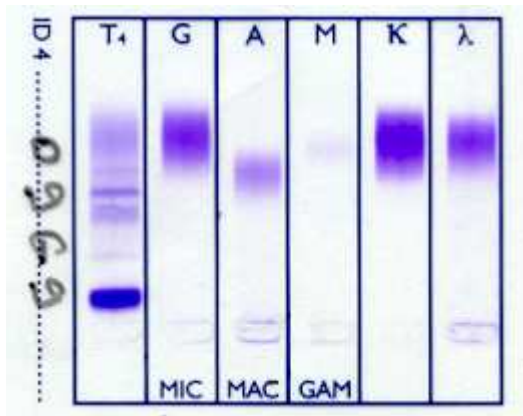
figure 1 : Tracé électrophorétique obtenu avec l'échantillon 09G9 (gel d'agarose, noir amide)



2 – Recherche de l'immunoglobuline monoclonale

Réponse attendue, obtenue à partir des réponses des experts : absence d'immunoglobuline monoclonale (figure 2).

figure 2 : Immunofixation obtenue avec l'échantillon 09G9



Résultats des participants

Le nombre de laboratoires ayant répondu pour cette analyse est de 1674.

1 – Electrophorèse des protéines

1 – 1 - Méthodes et réactifs

Les méthodes et réactifs utilisés sont présentés dans le tableau II.

Le support le plus utilisé, malgré une forte diminution en 2 ans, reste le gel d'agarose : 54,2% d'utilisateurs contre 67,2% en 2007. L'électrophorèse capillaire poursuit sa progression avec 32,7% d'utilisateurs contre 17,3% en 2007.

Concernant le choix du colorant sur gel d'acétate de cellulose, seul le rouge ponceau est utilisé. Parmi les utilisateurs de gel d'agarose, le noir amide (amidoschwarz) est le plus souvent utilisé (908 utilisateurs). Puis, viennent le bleu acide utilisé par 169 laboratoires et le rouge ponceau utilisé par 2 laboratoires.

Tableau II – Electrophorèse des protéines (%) – Echantillon 09G9 – Méthodes et réactifs utilisés

Réactifs	Méthode	2009		2008	2007
		Nombre d'utilisateurs	%	%	%
Support Acetate de cellulose - rouge ponceau [cell-Pon]		36	2,2	2,6	2,9
Elitech (Helena), Titan III Protéines (rouge ponceau)		36			
Support Agarose - amidoschwarz (noir amide, amido black) [aga-Schw]		908	54,2	61,2	67,2
Beckman Coulter, Paragon SPE		4			
Biomidi, Midigel Protéines		2			
Elitech (Helena), Titan Gel Protéines (HR) (amidoschwarz)		4			
Elitech (Helena), Kit REP SPE Applicateurs (amidoschwarz)		1			
Elitech (Helena), Kit REP b1-b2 Applicateurs (amidoschwarz)		3			
Sebia, Hydragel b1-b2 [HYDRASYS]		124			
Sebia, Hydragel (Hydratest) (HR) Protein(e) [HYDRASYS]		604			
Sebia, Hydragel Protein(e) K20 (amidoschwarz)		166			
Support Agarose - bleu acide [aga-Bleu]		169	10,1	11,3	12,1
Elitech (Helena), Kit (Titan) Protéines 2000 (bleu acide)		40			
Elitech (Helena), SAS-MX Serum Protein (bleu acide)		36			
Elitech (Helena), SAS-MX Serum Protein SB (bleu acide)		11			
Elitech (Helena), SAS-1 Serum Protein (bleu acide)		11			
Elitech (Helena), SAS-1 Serum Protein SB (bleu acide)		71			
Support Agarose - rouge ponceau [aga-Pon]		2	0,1	0,05	0,05
Elitech (Helena), REP (rouge ponceau)		2			
Electrophorèse capillaire [capillaire]		547	32,7	23,7	17,3
Beckman Coulter, Paragon CZE 2000 (SPE kit)		17			
Sebia minicap protéine 6		171			
Sebia, Capillarys Protein(e) 5/6/HR		359			
Code technique erroné ou non précisé, ou technique non répertoriée		12	0,7	1,5	0,5

1– 2 - Résultats quantitatifs

L'analyse statistique des résultats est reportée dans le tableau III. On observe une nette amélioration du coefficient de variation pour la fraction alpha-2 globulines : CV de 11,5% pour une moyenne de 9,6% en 2009, contre un CV de 16,6% pour une moyenne de 9,5% en 2008. Les performances en termes de dispersion des résultats (CV%), pour les autres fractions, sont du même ordre que les années précédentes. Comme en 2008, on observe en particulier de très bonnes performances pour l'albumine avec l'électrophorèse capillaire (CV<2%).

Tableau III – Electrophorèse des protéines – Echantillon 09G9 : Résultats quantitatifs (fractions protéiques en %)

Réactifs - Appareil	N	Albumine		a1-globulines		a2-globulines		b-globulines		g-globulines	
		m	CV(%)	m	CV(%)	m	CV(%)	m	CV(%)	m	CV(%)
Ensemble des résultats	1671	62,5	3,9	2,9	27,2	9,6	11,5	10,1	9,7	14,4	8,4
Beckman Coulter, Paragon CZE 2000 (SPE kit)	17	62,3	1,2	4,8	5,2	10,1	7,1	8,6	7,3	14,0	2,4
Elitech (Helena), Kit (Titan) Protéines 2000 (bleu acide)	40	60,9	3,7	2,6	19,6	10,2	8,2	11,2	11,2	15,6	8,2
- Helena Biosciences, Polyslit (automate)	19	60,8	2,8	2,4	15,7	10,5	6,6	10,9	9,6	15,3	8,9
Elitech (Helena), SAS-1 Serum Protein (bleu acide)	11	61,8	3,2	2,7	18,7	7,8	6,9	12,7	9,4	15,1	8,2
Elitech (Helena), SAS-1 Serum Protein SB (bleu acide)	71	60,8	2,4	2,8	17,4	7,8	6,2	13,7	9,3	15,0	8,3
- Helena Biosciences, Platinum (logiciel)	14	60,0	3,4	2,7	24,5	8,0	6,5	13,2	18,8	15,6	9,8
- Helena Biosciences, SAS-1 (automate)	53	60,9	2,3	2,8	15,2	7,8	6,3	13,6	9,7	14,9	8,1
Elitech (Helena), SAS-MX Serum Protein (bleu acide)	36	62,4	5,2	2,7	18,4	9,3	11,4	11,0	13,7	15,1	11,2
- Helena Biosciences, Junior 24	16	60,1	7,8	3,0	15,9	9,3	11,0	11,8	13,1	15,9	13,1
Elitech (Helena), SAS-MX Serum Protein SB (bleu acide)	11	61,4	4,4	2,6	25,4	8,0	6,0	11,8	17,6	15,9	15,0
Elitech (Helena), Titan III Protéines (rouge ponceau)	36	59,2	4,1	2,4	25,8	10,0	13,5	11,0	8,6	16,0	9,5
- Helena Biosciences, Junior 24	19	59,7	2,4	2,4	23,2	9,8	8,6	11,3	4,6	15,8	8,5
Sebia minicap protéine 6	171	61,7	1,6	4,0	4,5	9,1	3,5	10,4	4,1	14,9	3,5
Sebia, Capillarys Protein(e) 5/6/HR	359	62,5	1,7	3,8	5,8	8,7	4,0	10,0	3,8	15,0	3,6
Sebia, HydrageI (Hydratest) (HR) Protein(e) [HYDRASYS]	602	63,3	5,1	2,3	11,6	10,6	9,0	9,7	10,6	13,9	9,5
- Sebia, DVSE	17	64,9	3,7	2,3	12,7	9,8	4,4	9,5	6,2	13,3	8,2
- Sebia, Hydrasys (automate)	346	63,4	5,2	2,3	11,7	10,6	9,0	9,6	10,8	13,9	9,8
- Sebia, Hyrys 2 Hit [avec standardisation]	82	60,6	1,9	2,5	7,7	11,4	4,6	10,5	6,0	14,9	4,6
- Sebia, Hyrys 2 Hit [sans standardisation]	78	65,8	3,7	2,2	10,0	9,9	7,4	9,1	10,2	13,0	7,8
- Sebia, Phoresis (logiciel)	43	63,0	5,0	2,4	12,5	10,9	7,6	10,0	9,5	14,2	9,6
- Sebia, Préférence	22	63,4	3,9	2,5	13,4	10,5	9,3	9,9	3,9	13,8	8,8
Sebia, HydrageI b1-b2 [HYDRASYS]	124	62,5	5,0	2,2	11,9	9,9	8,6	10,7	16,3	14,3	11,1
- Sebia, Hydrasys (automate)	68	62,4	4,8	2,2	11,3	10,0	9,2	10,9	16,6	14,3	12,6
- Sebia, Hyrys 2 Hit [avec standardisation]	30	61,5	4,3	2,2	12,0	10,2	5,7	10,8	9,6	15,0	10,2
- Sebia, Phoresis (logiciel)	11	62,6	5,3	2,2	13,2	9,8	8,4	10,9	17,1	14,0	7,0
Sebia, HydrageI Protein(e) K20 (amidoschwarz)	166	63,9	4,3	2,4	11,6	9,4	7,6	11,0	8,5	13,5	10,3
- Sebia, DVS	14	63,3	2,3	2,3	8,7	9,3	4,5	10,9	8,1	14,2	5,8
- Sebia, DVSE	42	64,6	4,0	2,4	12,7	9,2	8,6	10,9	7,0	13,3	9,5
- Sebia, Hyrys 2 Hit [avec standardisation]	15	61,0	1,5	2,4	14,7	10,1	2,8	11,5	9,1	14,9	6,2
- Sebia, Hyrys 2 Hit [sans standardisation]	23	66,4	3,2	2,2	11,8	8,8	5,2	10,2	7,2	12,3	8,9
- Sebia, Préférence	30	63,6	4,4	2,4	11,1	9,5	7,0	11,1	7,3	13,3	11,2

1– 3 – Résultats qualitatifs

Les laboratoires devaient rendre l'analyse du tracé électrophorétique et son interprétation : 1657 laboratoires ont répondu à au moins un de ces deux items. Parmi eux, 1278 laboratoires (77,1%) ont conclu que ce tracé n'entraînait aucun commentaire particulier. Les réponses des autres laboratoires sont présentées dans les deux sous-chapitres suivants.

1-3-1- Analyse du tracé

Cet item a été renseigné par 1652 laboratoires (tableau IV). La majorité des laboratoires (78%) a répondu « pas de commentaire particulier ». La seconde réponse la plus fournie est « Hypoalbuminémie » (5,4%). Cette réponse n'est pas liée à un réactif en particulier ou une technique (gel ou capillaire).

Tableau IV – Electrophorèse des protéines – Echantillon 09G9 : Analyse du tracé

Analyse du tracé	Effectif
Pas de commentaire particulier.	1289
Hypoalbuminémie.	90
Bis albuminémie.	5
Augmentation de la fraction alpha1-globulines.	3
Augmentation de la fraction alpha2- globulines.	5
Augmentation de la fraction bêta-globulines.	3
Augmentation de la fraction bêta1-globulines.	3
Augmentation de la fraction bêta2-globulines.	6
Augmentation de la fraction gamma-globulines.	11
Diminution de la fraction alpha1-globulines.	8
Diminution de la fraction alpha2- globulines.	30
Diminution de la fraction bêta-globulines.	49
Diminution de la fraction bêta1-globulines.	2
Diminution de la fraction bêta2-globulines.	58
Diminution de la fraction gamma-globulines.	4
Bloc bêta-gamma.	9
Pic étroit dans la zone des alpha1-globulines.	1
Pic étroit dans la zone des alpha2- globulines.	1
Pic étroit dans la zone des bêta-globulines.	6
Pic étroit dans la zone des bêta1-globulines.	4
Pic étroit dans la zone des bêta2-globulines.	18
Pic étroit dans la zone des gamma-globulines.	21
Profil oligoclonal.	1
Restriction d'hétérogénéité des gamma-globulines.	20
Bande large dans la zone des gamma-globulines.	1
Pic étroit dans la zone des alpha-globulines + pic étroit dans la zone des gamma-globulines.	1
Pic étroit dans la zone des bêta-globulines + pic étroit dans la zone des gamma-globulines.	2
2 pics étroits dans la zone des gamma-globulines.	1
Total	1652

1- 3 -2- Interprétation du tracé

Cet item a été renseigné par 1627 laboratoires (tableau V). La majorité des laboratoires (86,4%) a répondu « Electrophorèse des protéines d'aspect normal ». Les deux réponses suivantes sont « Résultats à contrôler dans un mois » (76/1627 soit 4,7%) et « Résultats nécessitant des examens complémentaires pour la recherche et le typage d'une dysglobulinémie monoclonale » (67 /1627 soit 4,1%).

Parmi les 67 laboratoires concluant « résultats nécessitant des examens complémentaires pour la recherche et le typage d'une dysglobulinémie monoclonale », 12 laboratoires n'ont observé ni pic monoclonal, ni restriction d'hétérogénéité sur le tracé électrophorétique.

Tableau V – Electrophorèse des protéines – Echantillon 09G9: Interprétation du tracé

Interprétation du tracé	Effectif
Electrophorèse des protéines d'aspect normal.	1406
Résultats à contrôler dans un mois.	76
Résultats en faveur d'un syndrome néphrotique.	3
Résultats en faveur d'une carence nutritionnelle.	27
Résultats en faveur d'un syndrome infectieux.	5
Résultats nécessitant des examens complémentaires pour la recherche et le typage d'une dysglobulinémie monoclonale.	67
Résultats nécessitant des examens complémentaires pour rechercher un syndrome inflammatoire.	7
Résultats nécessitant des examens complémentaires pour rechercher une insuffisance hépatocellulaire.	20
Résultats nécessitant des examens complémentaires pour rechercher une dyslipidémie.	4
Résultats nécessitant des examens complémentaires pour rechercher un déficit immunitaire.	7
Hypergammaglobulinémie.	5

2 – Détection et caractérisation d'une immunoglobuline monoclonale

Le nombre de participants est de 1203.

2 – 1 – Techniques et réactifs

Le bordereau réponse permettait aux laboratoires de saisir deux systèmes de réactifs au plus : un système relevant de la technique d'immunofixation et un système relevant d'une autre technique. L'ensemble des systèmes utilisés est détaillé dans les tableaux VI et VII.

L'analyse des réponses montre que :

- 855 laboratoires utilisent uniquement un système d'immunofixation.
- 328 laboratoires utilisent uniquement un système relevant d'une technique autre que l'immunofixation
- 20 laboratoires utilisent deux techniques dont l'immunofixation.

tableau VI – Réactifs d'immunofixation utilisés pour la détection et caractérisation d'une immunoglobuline monoclonale

Code	Réactif d'immunofixation	effectif
QXA1	BECKMAN Paragon IFE (réf : 444930 / 446390)	4
QXH5	ELITECH / HELENA Kit Titan gel IFE 2000 (réf : 21016)	18
QXH6	ELITECH / HELENA SAS-MX Immunofix (réf : 100300)	14
QXH7	ELITECH / HELENA SAS-I Immunofix (réf : 200300)	46
QXH8	ELITECH / HELENA SAS-3 Immunofix (réf : 300300)	8
QXS6	SEBIA Hydragel IF K20 / double IF K20 (réf : 3031/3036/3222)	80
QXS8	SEBIA Hydragel 1/2/4/9 IF (MD) [Hydrasys] (réf : 4301/4302/4304/4308/4309/4381/4382)	405
QXS9	SEBIA Hydragel 1/2/4/9 IF (MS) [Hydrasys] (réf : 4801/4802/4804/4808/4809/4881/4882)	250
QXSA	SEBIA Hydragel 1/2/4/9 Bence Jones (MD) [Hydrasys] (réf : 4321/4322/4324/4383)	2
QXSC	SEBIA Hydragel 6/12 IF Penta (MD) [Hydrasys] (réf : 4341/4342/4384)	6
QXSD	SEBIA Hydragel 6/12 IF Penta (MS) [Hydrasys] (réf : 4841/4842/4884)	2
QXSE	SEBIA Hydragel IF Penta K20 (réf : 3037)	7
QXSG	SEBIA Hydragel 3/6 CSF (MS) [Hydrasys] (réf : 4850/4851)	2
QXSJ	SEBIA Hydragel 2 IF/BJ (HR) (MS) [Hydrasys] (réf : 4803)	17
	Autre ou non précisé, code erroné	14
	Total	875

tableau VII – Réactifs, relevant d'une technique autre que l'immunofixation, utilisés pour la détection et caractérisation d'une immunoglobuline monoclonale

Code	Réactif relevant d'une technique autre que l'immunofixation	effectif
QEA1	BECKMAN Paragon IEP (réf : 655703)	4
QEA2	BECKMAN Réactif d'immunofixation par soustraction pour l'électrophorèse capillaire	14
QES1	SEBIA Hydragel IEP sans antiserum [K20] (réf : 4036/4226)	5
QESC	SEBIA Capillarys Immunotyping (réf : 2100)	291
QESM	SEBIA minicap protéine 6	28
QEZX	Technique « maison » : immunoélectrophorèse	3
	Code réactif erroné	3
	Total	348

2 – 2 – Résultats

La réponse « Absence d'immunoglobuline monoclonale » a été rendue par 98,1% (1180) des laboratoires (tableau VIII). On note que 0,8% (10) des laboratoires ont signalé ne pas effectuer cette recherche au vu des résultats de l'électrophorèse des protéines, réponse pouvant être justifiée par l'absence de renseignements cliniques dans le cadre d'un dossier patient. En revanche, 6 laboratoires demandent un complément d'analyse (tests en présence de sérums anti-IgD et anti-IgE).

Enfin, on observe 0,4% (5/1203) de résultats faussement positifs. Ces 5 réponses ont toutes été obtenues en méthode capillaire (4 avec le Capillarys Immunotyping de la société Sébia et 1 avec le minicap protéine 6 de la société Sébia)

tableau VIII – Résultats des participants pour la détection et caractérisation d'une immunoglobuline monoclonale

Code	Résultat	effectif
QRB9	Absence d'immunoglobuline monoclonale	1180
QRNE	Non effectuée au vu des résultats de l'électrophorèse des protéines	10
QRAT	Prélèvement transmis pour tests en présence de sérums anti-IgD et anti-IgE	6
	Absence de résultats	2
QRLA	Présence d'immunoglobuline monoclonale de type IgA Lambda	1
QRKM	Présence d'immunoglobuline monoclonale de type IgM Kappa	1
QRKG	Présence d'immunoglobuline monoclonale de type IgG Kappa	1
QRKA	Présence d'immunoglobuline monoclonale de type IgA Kappa	1
QRBA	Présence d'immunoglobuline monoclonale de type IgE Kappa + protéine de Bence Jones Kappa	1

3 – Couples de réponses Electrophorèse / Recherche d'immunoglobuline monoclonale

Concernant les 5 laboratoires ayant mis en évidence une immunoglobuline monoclonale, 4 laboratoires avaient observé un pic ou une restriction d'hétérogénéité à l'électrophorèse et 1 laboratoire une diminution de la fraction alpha2-globulines. Concernant les 6 laboratoires désirant faire procéder à un complément d'analyse (tests en présence de sérums anti-IgD et anti-IgE), tous avaient mis en évidence un pic étroit à l'électrophorèse.

Si l'on étudie les 77 réponses qui signalent sur le tracé électrophorétique soit la présence d'un pic monoclonal, soit un profil oligoclonal, soit une restriction d'hétérogénéité, soit la présence d'une bande large, seuls 5 laboratoires retrouvent à l'identification une protéine monoclonale et seuls 6 laboratoires parmi ceux qui n'ont pas identifié de protéine monoclonale préconisent l'emploi de sérums anti-IgD et anti-IgE.

Conclusion

Cette opération de contrôle souligne l'intérêt de proposer parfois des échantillons « normaux ». L'utilisation d'un sérum normal destiné à l'électrophorèse des protéines et/ou la recherche d'immunoglobuline monoclonale est informative au niveau quantitatif (fractions de l'électrophorèse). Surtout, l'utilisation d'un tel sérum met en évidence l'incohérence des réponses liée soit à une mauvaise lecture du tracé (exemple : observation d'un bloc bêta-gamma sur un profil normal), soit à une interprétation erronée de l'anomalie observée (exemple : demande d'examens complémentaires pour la recherche d'une immunoglobuline monoclonale en absence de pic à l'électrophorèse), et surtout à une non vérification de l'adéquation entre le résultat de l'électrophorèse et celui de l'immunofixation. Ce sérum 09G9 a également montré, dans le cadre de la recherche d'immunoglobuline monoclonale, une méconnaissance de la technique d'immunofixation. En absence totale de bande de précipitation en présence de sérums anti-chaînes légères au niveau du tracé, il est inutile de tester les sérums anti-IgD et anti-IgE. En effet, aucune maladie des chaînes lourdes epsilon ou delta n'a été décrite à ce jour.

Echantillon 09G8

Anticorps anti-nucléaires

Définition de l'échantillon

L'échantillon 09G8 est un sérum liquide d'origine humaine.

Les experts suivants : Dr C. André (CHU Henri Mondor – Créteil), Dr D. Bengoufa (Hôpital St Louis – Paris – 75), Dr N.Fabien (CH Lyon Sud – Lyon), Dr F. Fortenfant (Hôpital de Rangueil – Toulouse), Dr J.M. Gombert (Hôpital de la Milétrie – Poitiers – 86), Dr C. Johanet (Hôpital St Antoine - Paris), Pr P. Youinou (CHU – Brest) ont testé l'échantillon 09G8.

Ils ont répondu de façon unanime :

- **pour le dépistage des anticorps anti-nucléaires en IFI sur cellules HEp2** : résultat négatif
- **pour l'identification** :
 - Absence d'anticorps anti-ADN natif
 - Absence d'anticorps anti-antigènes nucléaires solubles

Résultats des participants

Le nombre de laboratoires ayant participé au dépistage et / ou à l'identification des anticorps anti-nucléaires est de 545.

1 – Dépistage des anticorps anti-nucléaires

Le nombre de participants ayant réalisé le dépistage des anticorps anti-nucléaires sur cellules HEp2 pour l'échantillon 09G8 est de 530

1 – 1 Matériel et méthodes : immunofluorescence indirecte sur cellules HEp2.

Grossissement de l'objectif :

Le grossissement de l'objectif a été précisé par 521 laboratoires. Les grossissements x40 et x50 sont utilisés par 94,8%% des participants (tableau IX).

tableau IX - IFI sur cellules HEp2 - Grossissement de l'objectif utilisé par les participants

Grossissement	Effectif
20	7
25	8
40	446
50	53
57	1
60	1
63	1
100	4
Total	521

Dilution de dépistage : Cet item a été renseigné par 512 laboratoires (tableau X). Les dilutions de dépistage 1:80 et 1:100 sont utilisées par 87,9%.

Tableau X - IFI sur cellules HEp2 - Dilution de dépistage utilisée par les participants

Dilution de dépistage	Effectif
Pur	4
1 : 20	1
1 : 30	1
1 : 40	33
1 : 50	2
1 : 80	393
1 : 100	57
1 : 160	20
1 : 320	1
Total	512

Réactifs : Les réactifs utilisés par les participants sont répertoriés dans le tableau XI.

tableau XI - IFI sur cellules HEp2 – réactifs utilisés par les participants

Code	Réactif	Effectif
QNW4	BIO-RAD Quantafluor Lame HEp2	160
QNA4	BIOADVANCE IF-HEp2 / Foie de primate	18
QNA5	BIOADVANCE IF-HEp20-10 / Foie de primate	5
QNA1	BIOADVANCE IFI : HEp2 anti ANA	45
QNA2	BIOADVANCE IFI : HEp20-10 anti ANA	91
QNC1	BIOMEDICAL DIAGNOSTICS ANA Test	16
QNEF	DIAMED Kit Tests AAN HEp2 coffret complet (Gamme ZEUS)	1
QNEE	DIAMED Lame HEp2 (Gamme ZEUS)	4
QNV1	DIASORIN Anafluor	3
QNQ6 ; QNC5 ; QNC6 ; QNC7	<i>IMMUNOCONCEPT ANA-Ro fluorescent HEp2000</i>	85
QNN3	INGEN / ZEUS ANA HEp2 IFI (ref 24012B)	15
QNN1	INGEN ANA HEp2 IFI	1
QND1	INODIAG Lame Must ANA Screen (ref 02-ANA-20, 02-ANA-100)	3
QNH3	INSTITUT J.BOY HEp2.ANA	2
QNS1	MENARINI DIAGNOSTICS Nova- lite ANA HEp2	13
QNM5	ORGENTEC Cellules HeP2 Coffret	16
QNM6	ORGENTEC Cellules HeP2 lames	4
QNJ2	SERVIBIO ServIF Hep	4
QNY2	THE BINDING SITE Coffret ANA cellules HEp2 - technologie AIM	1
QNY1	THE BINDING SITE Kit ANA cellules HEp2	24
QNY2	THE BINDING SITE Lames HEp2	6
QNZZ	Technique "maison"	4
	Autre ou non précisé, code erroné	9
	Total	530

Les réactifs utilisant des cellules Hep 2000 sont signalés en italique.

1 – 2 Résultats

Nous avons recueilli 528 réponses qualitatives dont 497 réponses négatives (94,1%) et 31 réponses positives (5,9%). Les réponses positives ne sont pas liées à un réactif particulier. Seulement 4 d'entre elles sont accompagnées d'un titre supérieur au seuil de 1 : 80 et 21 réponses sont associées à un titre égal au seuil. Enfin, 5 réponses positives correspondent à un titre inférieur au seuil et 1 réponse n'a pas de titre renseigné. Concernant l'aspect de la fluorescence en cas de réponse positive, l'aspect majoritairement rapporté est l'aspect moucheté : 87% des réponses positives (tableau XII). A noter que deux réponses négatives sont accompagnées d'un aspect moucheté. Dans ces deux derniers cas, le titre rendu est égal au seuil de dépistage.

tableau XII - Aspect de la fluorescence pour les réponses qualitatives positives

Aspect	Effectif
Moucheté	27
Homogène	3
Cytoplasmique	1
Total	31

2 – Anticorps anti-ADN natif

Le nombre de laboratoires ayant effectué la recherche d'anticorps anti-ADN natif sur l'échantillon 09G8 est de 307. Ce nombre n'est pas représentatif du nombre de laboratoires susceptibles de réaliser cette analyse (on observait 480 participants en 2008), un certain nombre de laboratoires n'ont pas procédé à l'identification des anticorps anti-nucléaires étant donné que le dépistage en IFI était négatif.

2 – 1 Matériel et méthodes

Le tableau XIII donne à titre indicatif les réactifs utilisés par les laboratoires ayant poussé l'analyse jusqu'à l'identification des anticorps anti-ADN natif.

3 – 2 Résultats

On observe 100% de bonnes réponses, c'est-à-dire négatives.

4 – Anticorps anti-antigènes nucléaires solubles

Le nombre de laboratoires ayant effectué la recherche d'anticorps anti-antigènes nucléaires solubles sur l'échantillon 09G8 est de 279. Ce nombre n'est pas représentatif du nombre de laboratoires susceptibles de réaliser cette analyse (on observait 462 participants en 2008), un certain nombre de laboratoires n'ont pas procédé à l'identification des anticorps anti-nucléaires étant donné que le dépistage en IFI était négatif.

3- 1 Matériel et méthodes

Les laboratoires avaient la possibilité d'effectuer de 1 à 4 tests. Un même réactif pouvait être utilisé plusieurs fois par un même laboratoire mais pour des spécificités différentes. Le nombre de tests réalisés est de 720. Parmi eux, six tests n'étaient pas accompagnés de résultats.

Le réactif utilisé a été renseigné pour 700 tests. Les tableaux XIV à XVIII répertorient les réactifs par technique. On note que :

- 54,1% des tests relèvent de la technique ELISA
- 39,4% des tests relèvent de la technique Immunodot
- 3,9% des tests relèvent de la technique Cytométrie
- 1,7% des tests relèvent de la technique IFI
- 0,9% des tests relèvent de la technique Ouchterlony

3– 2 Résultats

Toutes spécificités confondues, 99% des réponses sont négatives. Le tableau XIX rapporte les résultats par spécificité.

tableau XIII - Anticorps anti-ADN natif – réactifs utilisés par les participants

Code	Réactif	Effectif
QAW1	BIO-RAD Kallestad anti - ds DNA microplate EIA	38
QAW2	BIO-RAD Quantafluor ADN / Crithidia luciliae	28
QAA2	BIOADVANCE Elisa anti-dsDNA	15
QAA5	BIOADVANCE Euroassay anti-ENA profil, dsDNA	3
QAA4	BIOADVANCE Euroassay profil SLE	1
QAAG	BIOADVANCE Euroline ANA Profil 3	12
QAA3	BIOADVANCE IFI : crithidia luciliae anti-nDNA	35
QAC5	BIOMEDICAL DIAGNOSTICS DNA-Dot	12
QAC3	BIOMEDICAL DIAGNOSTICS DNA-LISA	8
QAC4	BIOMEDICAL DIAGNOSTICS DNA/Nuc-LISA	2
QAC2	BMD Coffret de détection des anticorps anti DNA natifs	1
QACF	BMD Fidis connective 10	8
QAC1	BMD Recherche des anticorps anti DNAn par IFI	8
QAP3	DIAMED Lame Crithidia Luciliae (gamme Zeus)	1
QAV5	DIASORIN Eti-ds DNA	9
QAVP	DIASORIN LIAISON dsDNA (310310)	2
QAD6	DPC Anti-ADN (Farr)	3
QAN2	INGEN AESKULISA dsDNA-G	4
QAN8	INGEN AtheNA ANA II	1
QAN9	INGEN AtheNA ANA III plus	1
QAN1	INGEN Crithidia Luciliae (gamme Zeus)	4
QAD1	INODIAG Lame Must Connectivite (ref 02-CON-20 , 02-CON-100)	2
QAS1	MENARINI DIAGNOSTICS Nova lite ADN db	2
QAS2	MENARINI Quanta lite ADN double brin	2
QAZ6	ORGENTEC Anti-dsDNA IgG	3
QAZB	ORGENTEC Anti-dsDNA IgG (Alegria)	15
QAZE	ORGENTEC Anti-dsDNA Screen (Alegria)	1
QAZA	ORGENTEC Anti-ssDNA	1
QAZ4	ORGENTEC Critidia luciliae 10 Lames	1
QAZ3	ORGENTEC Critidia luciliae Coffret	4
QAZ5	ORGENTEC NUCLEO-9	2
QAT8	PHADIA EliA ds DNA Well	39
QAT6	PHADIA Varelisa dsDNA antibodies EIA	3
QAT7	PHADIA Varelisa Recombi ANA profile	2
QAXA	SERVIBIO Fluoro Ndna	1
QAX1	SERVIBIO Servitex anti n DNA	2
QAY4	THE BINDING SITE Farrzyme (anti-ADN double brin haute affinité)	3
QAY3	THE BINDING SITE Lames crithidia luciliae	2
QAY2	THE BINDING SITE Bindazyme (anti-DNA double brin)	5
QAY1	THE BINDING SITE Coffret DNA db crithidia luciliae	7
QABA	Trinity Biotech anti-ADN db	1
QAZY	Technique "maison" : ELISA	3
QAZX	Technique "maison" : IFI	3
	Autre ou non précisé, code erroné	7

tableau XIV – Réactifs relevant de l'ELISA pour l'identification des anticorps anti-ENA

Elisa		
Code	réactif	Effectif
QNW6	BIO-RAD ANA 6 Profile	125
QNW7	BIO-RAD Anti JO-1 EIA	1
QNWA	BIO-RAD Anti Scl70 EIA	1
QNW9	BIO-RAD Anti SSA EIA	1
QNW8	BIO-RAD Anti SSB EIA	1
QNW5	BIO-RAD ENA Screen microplate EIA	7
QNA4	BIOADVANCE Elisa anti ENA pool plus	5
QNA3	BIOADVANCE Elisa anti ENA profil plus	63
QNA6	BIOADVANCE Elisa anti JO-1	9
QNA8	BIOADVANCE Elisa anti SSA	1
QNAK	BIOADVANCE Elisa anti-RNP/Sm	1
QNAJ	BIOADVANCE Elisa anti-Sm	1
QNAH	BIOADVANCE Elisa anti-SSB	1
QNC9	BIOMEDICAL DIAGNOSTICS ENA -LISA	32
QNC8	BMD ENA-LISA polyvalent	9
QNCB	BMD ENA-LISA Scl70-JO-1	5
QNVN	DIASORIN ETI-ANA / ENA 8 profile	1
QNVM	DIASORIN ETI-ENA 7 Screen	3
QNNL	INGEN / AESKU AESKULISA Anti-Scl70	1
QNNK	INGEN / AESKU AESKULISA Sm / RNP-C	1
QNNG	INGEN / AESKU AESKULISA SSA 52	1
QNNE	INGEN / AESKU AESKULISA SSA 60	1
QNND	INGEN / AESKU AESKULISA SSB	1
QNS4	MENARINI Quanta lite ENA 5 Elisa	1
QNM9	ORGENTEC ANA Screen	1
QNX9	ORGENTEC ANA Screen (Alegria)	2
QNMP	ORGENTEC Anti-Jo-1	1
QNMN	ORGENTEC Anti-Scl-70	2
QNML	ORGENTEC Anti-Sm	2
QNMG	ORGENTEC Anti-Ssa	1
QNMK	ORGENTEC Anti-SSb	2
QNMB	ORGENTEC ENA Screen	8
QNXB	ORGENTEC ENA Screen (Alegria)	5
QNME	ORGENTEC ENA-6-Profile	1
QNM8	ORGENTEC NUCLEO-9	6
QNTC	PHADIA JO-1 Well	1
QNTA	PHADIA La Well	3
QNTB	PHADIA Ro Well	3
QNTD	PHADIA Scl70 Well	1
QNT9	PHADIA Sm Well	1
QNT8	PHADIA Symphony Well	32
QNA2	PHADIA Varelista ANA Profile	4
QNT3	PHADIA Varelista JO-1 antibodies	1
QNTK	PHADIA Varelista Recombi ANA 8 Screen	7
QNT7	PHADIA Varelista Recombi ANA profile	5
QNT5	PHADIA Varelista RNP antibodies	1
QNT2	PHADIA Varelista Scl70 antibodies	1
QNT6	PHADIA Varelista SSA antibodies	1
QNT1	PHADIA Varelista SSB/La antibodies	1
QNY4	THE BINDING SITE Anti-Nucléaires Profile	9
QNY3	THE BINDING SITE Bindazyme ENA : dépistage	4
	Total	379

tableau XV – Réactifs relevant de l'Immunodot pour l'identification des anticorps anti-ENA

Immunodot		
Code	réactif	Effectif
QNF1	ALL DIAG ENACHECK	17
QNA5	BIOADVANCE Euroassay anti-ENA Profil plus	22
QNAM	BIOADVANCE Euroassay anti-ENA Profil, Protéine centromérique B	1
QNA9	BIOADVANCE Euroassay Profil SLE	4
QNAD	BIOADVANCE Euroassay Profil, dsDNA	8
QNAF	BIOADVANCE Euroline ANA Profil 1	1
QNAL	BIOADVANCE EUROLINE ANA Profil 1	5
QNAG	BIOADVANCE Euroline ANA Profil 3	86
QNAE	BIOADVANCE Euroassay Profil, M2	4
QNCG	BIOMEDICAL DIAGNOSTICS ENA Dot 7	106
QNVQ	DIASORIN ANA10 DOT (gamme D-tek)	6
QNVR	DIASORIN ANA12 DOT (gamme D-tek)	2
QNVH	DIASORIN ANA8 DOT (gamme D-tek)	1
QNVF	DIASORIN Conectivitis Dot	1
QNN7	INGEN / Alphadia DOT ENA Screen	2
QNM1	INGEN / INNOGENETICS Inno-lia ANA update	4
QNMF	ORGENTEC ANA 9 Line Immunoblot	5
QNZY	Technique "maison" : Immunodot	1
Total		276

tableau XVI – Réactifs relevant de la cytométrie de flux pour l'identification des anticorps anti-ENA

Cytométrie		
Code	réactif	Effectif
QNWD	BIORAD BioPlex 2200 ANA Screen	2
QNCF	BMD FIDIS connective 10	25
Total		27

tableau XVII – Réactifs relevant de l'IFI pour l'identification des anticorps anti-ENA

IFI		
Code	réactif	Effectif
QND1	INODIAG Lame Must Connectivite (ref 02-CON-20 , 02-CON-100)	12
Total		12

tableau XVIII – Réactifs relevant de l'Ouchterlony pour l'identification des anticorps anti-ENA

Ouchterlony		
Code	réactif	Effectif
QNN2	INGEN Antigène nucléaire soluble ENA (P 4083 2)	1
QNZX	Technique "maison" : Ouchterlony	5
Total		6

tableau XIX – Résultats anticorps anti-antigènes nucléaires solubles

Spécificité	Résultat		
	négatif	douteux	positif
Anti-Ag nucléaires solubles	106		
Anti-Sm	99		1
Anti-RNP	81		3
Anti-SSA (Ro)	135	1	
Anti-SSB (La)	128	1	
Anti-Scl 70	64		
Anti-Jo1	23		
Anti-histones	5		1
Anti-centromère	3		
Anti-ribosomes	4		
Non précisé	59		
Total (714 tests)	707	2	5

Conclusion

L'opération de contrôle 09ATI1 concernant le dépistage et l'identification des anticorps anti-nucléaires proposait un échantillon (09G8) sans anticorps anti-nucléaires. Les résultats montrent que cet échantillon n'a pas posé de problème particulier. Il était logique que les laboratoires ne réalisent que le dépistage des anticorps anti-nucléaires puisque cet échantillon était négatif. Ceci explique le nombre moindre de laboratoires ayant réalisé l'identification des anticorps anti-DNA natif et des anticorps anti-antigènes nucléaires solubles que lorsque des échantillons positifs sont proposés au CNQ. Cependant, rappelons ici que la nomenclature des actes de biologie médicale autorise la prescription d'une recherche anticorps anti-SSA même en absence d'anticorps anti-nucléaires en IFI sur cellules HEp2 (Acte 1457) dans les cas suivants :

- « a- le lupus néonatal ou cardiopathie congénitale (recherche chez la mère et l'enfant) ;
- b- avortements à répétition ;
- c- grossesse à risque survenant après a- ou b- ;
- d- lupus cutané subaigu. ».

En l'absence de données cliniques, les deux attitudes (recherche ou non d'un anticorps anti-SSA) étaient acceptables dans le cadre du CNQ.