

Agence française
de sécurité sanitaire
des produits de santé



Annales du Contrôle National de Qualité des Analyses de Biologie Médicale

Anticorps anti-thyroïdiens
Anticorps anti-nucléaires

Immunopathologie 05AT11

Juin 2005

Edition : mars 2006

Stéphanie ALBAREDE et Anne GUYARD (AFSSAPS)
Bach-Nga PHAM (Hôpital Beaujon – Clichy)

Expédition : 01/06/05

Clôture : 27/06/05

Edition des compte-rendus individuels :

Paramètres contrôlés : **05G3 – Anticorps anti-thyroïdiens**
05G8 – Anticorps anti-nucléaires

Nombre de laboratoires concernés* : 1365

Nombre de laboratoires participants** : 1316

* 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 05AT11 a concerné les laboratoires qui ont déclaré pratiquer la recherche des anticorps anti-thyroïdiens et/ou la recherche d'anticorps anti-nucléaires.

Les anticorps anti-thyroïdiens (anticorps anti-thyroperoxydase, anticorps anti-thyroglobuline, anticorps anti-récepteur de la TSH) n'avaient pas été contrôlés depuis 1998. L'échantillon 05G3 a permis de souligner deux problèmes :

- les résultats quantitatifs obtenus avec des réactifs différents ne sont pas comparables malgré l'utilisation d'unités internationales.
- la technique Immunodot est mal maîtrisée par les laboratoires.

L'échantillon sérum 05G8 contenait des anticorps anti-nucléaires à titre faible (1 :160 pour une dilution de dépistage à 1 :80). Il a été noté un taux élevé de résultats faussement négatifs (50%).

Echantillon 05G3

Anticorps anti-thyroidiens

Définition de l'échantillon

L'échantillon 05G3 est un sérum humain lyophilisé.

Les experts suivants : Dr N. Fabien (CH Lyon Sud - Lyon), Dr M. d'Herbomez (CHU – Lille), Dr L. Musset (Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière - Paris), Dr R. Sapin (CHRU – Strasbourg) ont testé l'échantillon 05G3. Ils ont répondu de façon unanime :

- Présence d'anticorps anti-thyroperoxydase (TPO) et d'anticorps anti-thyroglobuline (TG).
- Absence d'anticorps anti-récepteur de la TSH.

Méthode statistique et expression des résultats

La méthode statistique qui suit a été appliquée pour l'analyse des titres en anticorps anti-TPO et anti-TG.

Les paramètres statistiques : effectif, moyenne et écart-type sont calculés à partir des données fournies par les laboratoires puis sont recalculés après une troncature à 3 écart-types.

Dans les tableaux de résultats figurent, pour les groupes supérieurs à 10 participants, les effectifs non tronqués (n), la moyenne tronquée (mTr), l'écart-type tronqué (sTr), la médiane tronquée (médianeTr) et le coefficient de variation tronqué (CVTr) calculé par la formule $100 \times sTr / mTr$. Pour les groupes où n est supérieur à 6 et inférieur à 10, seuls les effectifs non tronqués et les médianes tronquées sont indiqués.

Etant donné la dispersion des résultats inter-réactifs, la moyenne générale (c'est-à-dire tous réactifs confondus) et autres paramètres statistiques n'ont pas été calculés.

Enfin, les résultats obtenus avec un réactif relevant d'une technique immunodot n'ont pas été retenus.

Résultats des participants

1 – Anticorps anti-thyroperoxydase (anticorps anti-TPO)

Le nombre de laboratoires ayant rendu un résultat quantitatif et/ou qualitatif est de 890. Parmi ces participants, 82% sont des laboratoires privés.

3 – 1 Réactifs

La technique la plus utilisée est l'immuno-enzymologie avec 64,7% des participants (Tableau I). Viennent ensuite la chimiluminescence (18,6%) et l'immunodot (13,0%). La RIA ne représente que 2,3% des laboratoires. Enfin, les autres techniques sont employées par moins de 1% des participants.

3 – 2 Résultats

L'échantillon 05G3 contenait des anticorps anti-thyroperoxydase. Il n'était pas adapté au réactif Pharmacia UniCAP TPO antibodies. Il n'y a donc pas d'analyse des résultats des laboratoires utilisant ce réactif.

Les résultats qualitatifs sont présentés dans le tableau I. Seuls 640 laboratoires ont rendu une conclusion qualitative (résultat positif, négatif ou douteux), soit 72,6% des participants.

Le taux de bonnes réponses (positives ou douteuses) est de 84,5%. On observe 100% de bonnes réponses en chimiluminescence et RIA, 96,1% en immuno-enzymologie et seulement 68,8% en immunodot.

tableau I – anticorps anti-TPO : réactifs utilisés et réponses qualitatives

Techniques / réactifs	Anticorps anti-TPO			Absence de réponse qualitative (%)
	Nombre de laboratoires	Nombre de réponses qualitatives		
		positives	négatives	
Immuno-enzymologie	571			
ABBOTT AxSYM anti-TPO	251	181		27,9
ALLDIAG RAPID TPO	33	29	4	0,0
BIO ADVANCE ELISA anti-TPO	8	5	1	25,0
BIOMEDICAL DIAGNOSTIC Immunowell anti-TPO	13	10	2	7,7
BIO-RAD Kallestad Anti-TPO microplate	12	11		8,3
MERIDIAN Anti-TPO ELISA	1	1		0,0
ORGENTEC Anti-TPO	1	1		0,0
PHARMACIA Unicap TPO antibodies	69	<i>Echantillon non adapté</i>		18,8
PHARMACIA Varelsa TPO antibodies	4	4*		0,0
ROCHE DIAGNOSTICS anti-TPO elecsys	109	83	1	22,9
THE BINDING SITE Anti-TPO	3		3	0,0
TOSOH BIOSCIENCE AIA-PACK TPO AB	66	39	4	34,8
Technique ELISA "maison"	1	1		0,0
Chimiluminescence	164			
BAYER ACS:180 Anti-TPO	6	4		33,3
BAYER ADVIA Centaur Anti-TPO	61	39		36,1
BRAHMS anti-TPO _n LIA	6	2		66,7
DPC IMMULITE / IMMULITE 1000 Anti-TPO Ab	20	11		45,0
DPC IMMULITE 2000 Anti-TPO Ab	65	34		47,7
NICHOLS Nichols Advantage TPOAb	6			100,0
Cytométrie en flux	5			
BIOMEDICAL DIAGNOSTIC FIDIS Thyro	5	2		60,0
Immunodot	115			
ALLDIAG TPO Quick card	6	6		0,0
BIO ADVANCE EUROASSAY anti-TG, anti-TPO	2	2		0,0
BIOMEDICAL DIAGNOSTIC ImmunoDot	107	56*	29	20,6
Immunofluorescence indirecte	1			
Technique IFI "maison"	1		1	0,0
RIA	20			
BRAHMS anti-TPO _n	17	9		47,1
DIASORIN AB-TPOK-3	3	2		33,3
TRACE	3			
BRAHMS Kryptor anti-TPO _n	3			100,0
Agglutination	3			
BAYER Serodia AMC	1	1		0,0
OXOID Thymune M	2	2		0,0
Non précisé	8	4		50,0

*dont une réponse « résultat douteux ».

Concernant le titre des anticorps anti-TPO, nous avons analysé 820 réponses. L'analyse statistique de ces résultats quantitatifs (voir chapitre « méthode statistique et expression des résultats ») est présentée dans le tableau II. La majorité des résultats ont été rendu en UI/ml. Seuls 4 laboratoires rendent les résultats en inverse de dilution. Nous n'avons pas pris en compte les titres rendus par 75 laboratoires utilisant le réactif Biomedical Diagnostic ImmunoDot car la technique d'immunodot est une technique semi-quantitative.

tableau II – anticorps anti-TPO : résultats quantitatifs (titres en UI/ml)

Techniques / réactifs	Anticorps anti-TPO : titre en UI/ml				
	n	mTr	sTr	CVtr (%)	médianeTr
Immuno-enzymologie					
ABBOTT AxSYM anti-TPO	246	63,1	9,9	15,6	62
BIO ADVANCE ELISA anti-TPO	6				70
BIOMEDICAL DIAGNOSTIC Immunowell anti-TPO*	11				83
BIO-RAD Kallestad Anti-TPO microplate	12	90,1	14,7	16,3	89
ROCHE DIAGNOSTICS anti-TPO elecsys	108	120,0	14,2	11,9	121
TOSOH BIOSCIENCE AIA-PACK TPO AB	62	50,8	12,6	24,8	52
Chimiluminescence					
BAYER ACS:180 Anti-TPO	6				256
BAYER ADVIA Centaur Anti-TPO	61	256,1	19,9	7,8	254
BRAHMS anti-TPOn LIA	6				
DPC IMMULITE / IMMULITE 1000 Anti-TPO Ab	20	86,7	10,6	12,2	86
DPC IMMULITE 2000 Anti-TPO Ab	64	83,7	9,8	11,7	84
NICHOLS Nichols Advantage TPOAb	6				82
RIA					
BRAHMS anti-TPOn	16	223,3	18,4	8,2	222

* dispersion des résultats ne permettant pas de calculer une moyenne.

2 – Anticorps anti-thyroglobuline (anticorps anti-TG)

Le nombre de laboratoires ayant rendu un résultat quantitatif et/ou qualitatif est de 873. Parmi ces participants, 83,7% sont des laboratoires privés.

3 – 1 Réactifs

La répartition des techniques employées par les participants est sensiblement la même que pour les anticorps anti-TPO.

La technique la plus utilisée est l'immuno-enzymologie avec 62,4% des participants (tableau III). Viennent ensuite la chimiluminescence (18,3%) et l'immunodot (13,1%). La RIA ne représente que 2,3% des laboratoires, et l'agglutination 1,6%. Enfin, les autres techniques sont employées par moins de 1% des participants.

3 – 2 Résultats

L'échantillon 05G3 contenait des anticorps anti-thyroglobuline. Les résultats qualitatifs sont représentés dans le tableau III. Seuls 625 laboratoires ont rendu une conclusion qualitative (positive, négative ou douteuse), soit 71,6% des participants.

Le taux de bonnes réponses (positives ou douteuses) est de 96,8%. On observe 100% de bonnes réponses en chimiluminescence et RIA, 98,6% en immuno-enzymologie, 89,4% en immunodot et 78,6% en agglutination.

tableau III – anticorps anti-TG : réactifs utilisés et réponses qualitatives

Techniques / réactifs	nombre de laboratoires	Anticorps anti-TG		Absence de réponse qualitative (%)
		nombre de réponses positives	nombre de réponses négatives	
Immuno-enzymologie	545			
ABBOTT AxSYM anti-Tg	235	169	1	27,7
ALLDIAG RAPID TG	32	29	3	0,0
BIO ADVANCE ELISA anti-TG	6	4		33,3
BIOMEDICAL DIAGNOSTIC Immunowell anti-Tg	11	10		9,1
BIO-RAD Kallestad Anti-TG microplate	12	11		8,3
MERIDIAN Anti-TG ELISA	1	1		0,0
ORGENTEC Anti-TG	1	1		0,0
PHARMACIA Varelisa TG antibodies	4	4		0,0
PHARMACIA UniCAP TG antibodies	68	55	1	17,6
ROCHE DIAGNOSTICS anti-TG elecsys	106	79		25,5
THE BINDING SITE Anti-Tg	2	2		0,0
TOSOH BIOSCIENCE AIA-PACK TG AB	65	42	1	33,8
Technique ELISA "maison"	2	2		0,0
Chimiluminescence	160			
BAYER ACS:180 Anti-Tg	5	3		40,0
BAYER ADVIA Centaur Anti-Tg	60	38		36,7
BECKMAN COULTER ACCESS Tg Ab KIT	4	2		50,0
BRAMS anti-TGn LIA	8	4		50,0
DPC Immulite ANTI-TG Ab	25	13		48,0
DPC Immulite 2000 ANTI-TG Ab	53	30		43,4
NICHOLS Nichols Advantage TgAb	5			100,0
Cytométrie en flux	5			
BIOMEDICAL DIAGNOSTIC FIDIS Thyro	5	2		60,0
Immunodot	114			
ALLDIAG TG Quick card	7	7		0,0
BIO ADVANCE EUROASSAY anti-TG, anti-TPO	2	2		0,0
BIOMEDICAL DIAGNOSTIC ImmunoDot	105	75*	10	19,0
RIA	20			
BRAHMS anti-TGn	14	7		50,0
CIS BIO TGAB I STEP	2	1		50,0
DIASORIN AB-HTGK-3	4	2		50,0
TRACE	4			
BRAHMS Kryptor anti-Tgn	4			100,0
Agglutination	14			
BAYER Serodia anti-TG	3	3		0,0
OXOID THYMUNE T	11	8	3	0,0
Non précisé	11			100,0

*dont une réponse « résultat douteux ».

Concernant le titre des anticorps anti-TG, nous avons analysé 824 réponses. L'analyse statistique de ces résultats quantitatifs est représentée dans le tableau IV. La majorité des résultats a été rendue en UI/ml. Seuls 13 laboratoires rendent les résultats en inverse de dilution. Nous n'avons pas pris en compte les titres rendus par 96 laboratoires utilisant le réactif Biomedical Diagnostic ImmunoDot car la technique d'immunodot est une technique semi-quantitative. Concernant le réactif Roche Diagnostics anti-TG Elecsys, le titre de l'échantillon obtenu avec ce réactif était supérieur à la zone de linéarité des lots en circulation au moment du contrôle, c'est

à dire à 2000 UI/ml. Or, un additif à la notice en date de février 2004 précisait que « la limite supérieure du domaine de mesure pour ce lot est de 2000 UI/ml (au lieu de 4000 UI/ml) ». Dans la notice, il est stipulé qu'il n'est pas possible de diluer le sérum des patients au delà de cette limite supérieure, étant donné l'hétérogénéité des auto-anticorps.

tableau IV – anticorps anti-TG : résultats quantitatifs (titres en UI/ml)

Techniques / réactifs	Anticorps anti-TG : Titre en UI/ml				
	n	mTr	sTr	CVtr (%)	médianeTr
Immuno-enzymologie					
ABBOT AxSYM anti-Tg	233	284,1	32,7	11,5	281
ALLDIAG RAPID TG	6				369
BIO ADVANCE ELISA anti-TG	6				231
BIOMEDICAL DIAGNOSTIC Immunowell anti-Tg	11	256,4	128,9	50,3	235
BIO-RAD Kallestad Anti-TG microplate	12	378,6	105,2	27,8	371,5
PHARMACIA UniCAP TG antibodies	67	606,6	79,8	13,2	604
ROCHE DIAGNOSTICS anti-TG elecsys*	106				>2000
TOSOH BIOSCIENCE AIA-PACK TG AB	64	445,8	81,5	18,3	444,5
Chimiluminescence					
BAYER ADVIA Centaur Anti-Tg	57	499,3	37,0	7,4	494
DPC Immulite ANTI-TG Ab	25	296,1	44,6	15,1	295
DPC Immulite 2000 ANTI-TG Ab	52	331,6	34,1	10,3	331,5
BRAMS anti-TGn LIA	8				354
RIA					
BRAMS anti-TGn	12	402,9	37,8	9,4	394,5

* le titre de l'échantillon 05G3 obtenu avec le réactif anti-TG elecsys était supérieur au domaine de mesure du réactif (>2000 UI/ml).

3 – Anticorps anti-récepteur de la TSH

Le nombre de laboratoires réalisant cette analyse est faible : 37. Ces laboratoires se répartissent ainsi : 11 laboratoires privés, 24 laboratoires hospitaliers et deux laboratoires de centres anti-cancéreux.

3 – 1 Réactifs

La quasi-totalité des laboratoires (34) emploient un réactif de la société Brahms (tableau V) ; 2 laboratoires utilisent un réactif de la société Cis Bio.

Tableau V – anticorps anti-récepteur de la TSH : réactifs.

Réactifs	Nombre de laboratoires
BRAHMS TRAK	1
BRAHMS TRAK humain	27
BRAHMS TRAK humain LIA	6
CIS BIO Anti récepteur de la TSH	2
Non précisé	1

3 – 2 Résultats

L'échantillon 05G3 ne contenait pas d'anticorps anti-récepteur de la TSH. Une réponse qualitative a été rendue par 21 laboratoires avec 76,2% de résultats négatifs (tableau VI). Cependant, un résultat douteux et un résultat positif rendus avec le réactif TRAK humain de Brahms correspondent à des titres inférieurs au seuil.

tableau VI – anticorps anti-récepteur de la TSH : résultats qualitatifs

Réactifs	Résultats qualitatifs		
	Négatifs	Douteux	Positifs
BRAHMS TRAK	1		
BRAHMS TRAK humain	11	1	4
BRAHMS TRAK humain LIA	4		
CIS BIO Anti récepteur de la TSH	-	-	-

Parmi les 16 résultats non accompagnés d'une conclusion qualitative, 13 correspondent à des titres inférieurs au seuil de positivité. Si ces derniers résultats sont additionnés aux résultats déclarés négatifs, on obtient un taux de résultats conformes au résultat attendu de 78,4%.

Parmi les 35 réponses quantitatives recueillies, 6 réponses (17,1%) sont légèrement supérieures ou égales au seuil de positivité.

4 – Commentaires

L'opération du contrôle National de Qualité « Anticorps anti-thyroïdiens » portait sur le dosage des anticorps anti-thyroperoxydase (Ac anti-TPO), des anticorps anti-thyroglobuline (Ac anti-TG), et des anticorps dirigés contre le récepteur de la TSH (Ac anti-RTSH). Les techniques utilisées pour détecter ces auto-anticorps ont beaucoup évolué ces dernières années. Les premières techniques d'immunofluorescence indirecte et d'agglutination passive permettant la recherche des Ac anti-TPO et des Ac anti-TG ont été peu à peu supplantées par les techniques radio-immunologiques, puis par d'autres techniques (immuno-enzymologie, chimiluminescence, etc...). Il était donc souhaitable de pouvoir faire le point sur ces dosages.

L'échantillon distribué contenait des Ac anti-TPO et des Ac anti-TG. Il ne contenait pas d'Ac anti-RTSH.

L'analyse des résultats obtenus appelle plusieurs remarques :

- Il est surprenant que 27,4% des participants n'aient pas explicitement répondu à la question, à savoir présence ou absence d'anticorps anti-thyroïdiens, bien qu'ayant donné leur résultat quantitatif par rapport à la valeur seuil.

- Selon la nomenclature des actes de biologie médicale, la détection des anticorps anti-thyroïdiens comporte un titrage en cas de positivité. Les biologistes utilisant une technique immunodot doivent donc être prudents. En effet, la technique immunodot est classiquement une technique qualitative qui, au mieux, lorsqu'elle a été validée, peut être semi-quantitative. Il est alors possible de rendre un intervalle de valeurs (ex: résultat compris entre 65 UI/ml et 130 UI/ml) qui ne peut, en aucun cas, être substitué par un titre (ex: 65 UI/ml).

- L'absence de réelle standardisation concernant le dosage de ces auto-anticorps est reflétée par la dispersion des titres rendus. Pour les Ac anti-TPO, les médianes vont de 62 UI/ml à 256 UI/ml. Pour les Ac anti-TG, les médianes vont de 231 UI/ml à plus de 2000 UI/ml. Ces résultats sont d'autant plus surprenants que tous les réactifs commerciaux utilisent a priori les mêmes préparations de référence internationales, distribuées par le National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC), pour étalonner leur système :

- * Préparation de référence appelée standard MRC 66/387 (1000 U par ampoule) pour le dosage des Ac anti-microsomaux (l'appellation « Ac anti-microsomaux » est actuellement remplacée par l'appellation « Ac anti-TPO »). La notion « d'Unités Internationales » pour les Ac anti-TPO découle en fait de l'utilisation d'une préparation de référence internationale plus que de « réelles » Unités internationales.

- * Préparation de référence internationale appelée standard MRC 65/93 (1000 UI par ampoule) pour le dosage des Ac anti-TG.

Les résultats du Contrôle National de Qualité confirment la nécessité de disposer de nouvelles préparations de référence internationales, ceci dans le but d'obtenir une quantification plus standardisée des anticorps anti-thyroïdiens.

Echantillon 05G8

Anticorps antinucléaires

Définition des échantillons

L'échantillon est un sérum humain liquide.

Les experts suivants : Dr C. André (CHU Henri Mondor – Créteil) Dr J. Bengoufa (Hôpital St Louis - Paris), Pr J.M. Gombert (CHU – Poitiers), Dr C. Johanet (Paris), Dr B.N. Pham (Hôpital Beaujon - Clichy), Pr Youinou (CHU – Brest) ont testé l'échantillon 05G8. Ils ont répondu de façon unanime :

- Présence d'anticorps anti-nucléaires à titre faible (1 : 160), fluorescence d'aspect homogène (figures 1 et 2)
- Absence d'anticorps anti-ADN natif
- Absence d'anticorps anti-antigènes nucléaires solubles

Figure 1 – contrôle négatif sur cellules HEp2 (grossissement de l'objectif x40, dilution 1:80)

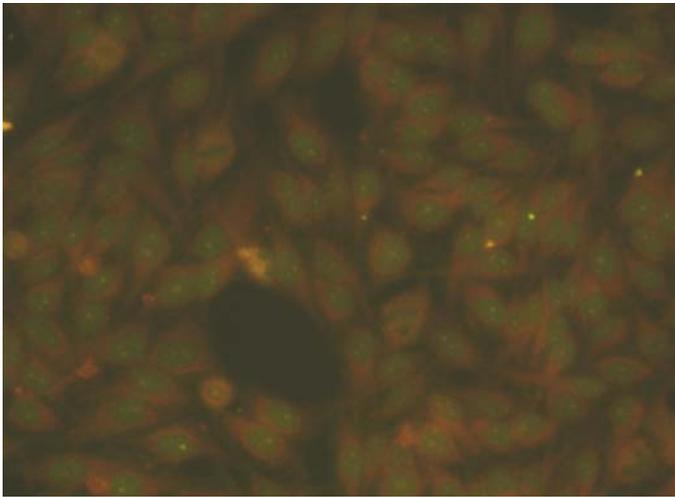
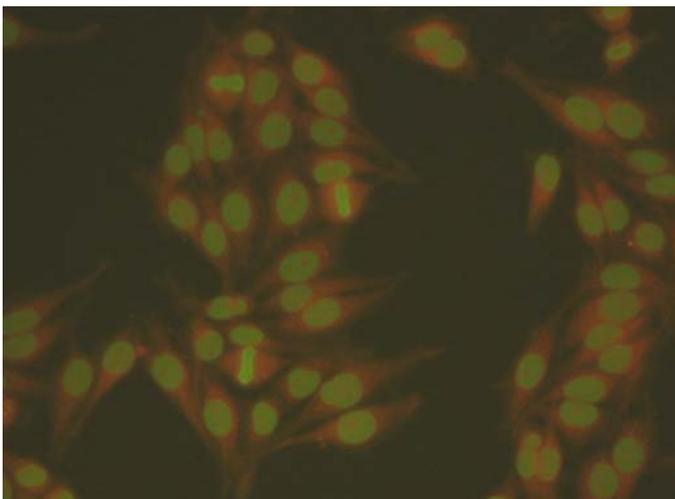


Figure 2 – Echantillon 05G8 sur cellules HEp2 (aspect homogène)



Résultats des participants

1 – Dépistage des anticorps anti-nucléaires

Les 571 laboratoires ayant effectué cette analyse ont utilisé l'immunofluorescence indirecte (IFI) sur cellules HEp2.

1 – 1 Matériel et méthodes

Les grossissements x40 et x50 sont utilisés par 95% des participants (tableau VII). Ce taux de participants est identique à celui de la dernière opération qui a eu lieu en 2003 (03AT12). Les dilutions de dépistage 1:80 et 1:100 sont utilisées par 80,5% des participants contre 79,7% en 2003 (tableau VIII). Pour les dilutions de dépistage 1:40 et 1:50, le pourcentage de laboratoires les utilisant a diminué par rapport à 2003 (14,6% en 2005 contre 17,1% en 2003).

tableau VII – IFI : grossissement de l'objectif

Grossissement de l'objectif	Nombre d'utilisateurs
10	1
16	1
20	5
25	10
32	1
40	454
50	81
54	1
60	2
80	1
100	6

tableau VIII – IFI : Dilution de dépistage

Dilution de dépistage (inverse de dilution)	Nombre d'utilisateurs
20	5
30	1
40	74
50	6
80	395
100	46
160	21
256	1
640	1

Les réactifs utilisés par les participants sont répertoriés dans le tableau IX. Les utilisateurs de cellules HEp2000 représentent un quart des participants (23,9% en 2004 et 25,7% en 2003). Le nombre de laboratoires employant une technique « maison » est faible (5) et identique à 2003.

tableau IX – IFI : Réactifs

Distibuteur / Réactif	Nombre d'utilisateurs
BIO-RAD Quantafluor Lame HEp2	169
BIOADVANCE IF-HEp2 / Foie de primate	29
BIOADVANCE IF-HEp20-10 / Foie de primate	7
BIOADVANCE IFI : HEp2 anti ANA	72
BIOADVANCE IFI : HEp20-10 anti ANA	63
BIOMEDICAL DIAGNOSTICS ANA Test	2
BIOMEDICAL DIAGNOSTICS Coffret HEp 2000	21
BIOMEDICAL DIAGNOSTICS Coffret HEp 2000 (ANA-Ro)	76
BIOMEDICAL DIAGNOSTICS HEp 2000 (lames et conjugué)	36
DIAMED Kit Tests AAN HEp2 coffret complet (Gamme ZEUS)	13
DIAMED Lame HEp2 (Gamme ZEUS)	8
IMMUNOCONCEPT ANA-Ro fluorescent HEp2000	2
INGEN ANA HEp2 IFI	3
INSTITUT J.BOY HEp2.ANA	4
INSTITUT J.BOY LAMES HEp2	1
MENARINI DIAGNOSTICS Nova- lite ANA HEp2	13
MERIDIAN ANA HEp2 IF Test System	4
ORGENTEC Cellules HEp2 Coffret	7
ORGENTEC Cellules HEp2 lames	2
SERVIBIO Fluoro HEPANA test	5
SERVIBIO ServIF Hep	1
THE BINDING SITE Kit ANA cellules HEp2	19
THE BINDING SITE Lames HEp2	2
Technique "maison"	5

1 – 2 Résultats

Concernant les résultats qualitatifs, nous avons recensé 565 réponses qui se répartissent ainsi :

- 284 réponses négatives
- 278 réponses positives
- 3 réponses douteuses.

A noter que 6 laboratoires n'ont pas rendu de résultat qualitatif bien qu'ayant rendu un titre : 3 laboratoires ont rendu un titre immédiatement supérieur à la dilution de dépistage et 3 égal à la dilution de dépistage.

Au total, nous avons donc observé 281 bonnes réponses (positives ou douteuses) et 284 réponses négatives, soit 50% de réponses faussement négatives. L'analyse des résultats par réactifs montrent que le pourcentage de réponses négatives ne dépend pas du réactif employé (tableau X).

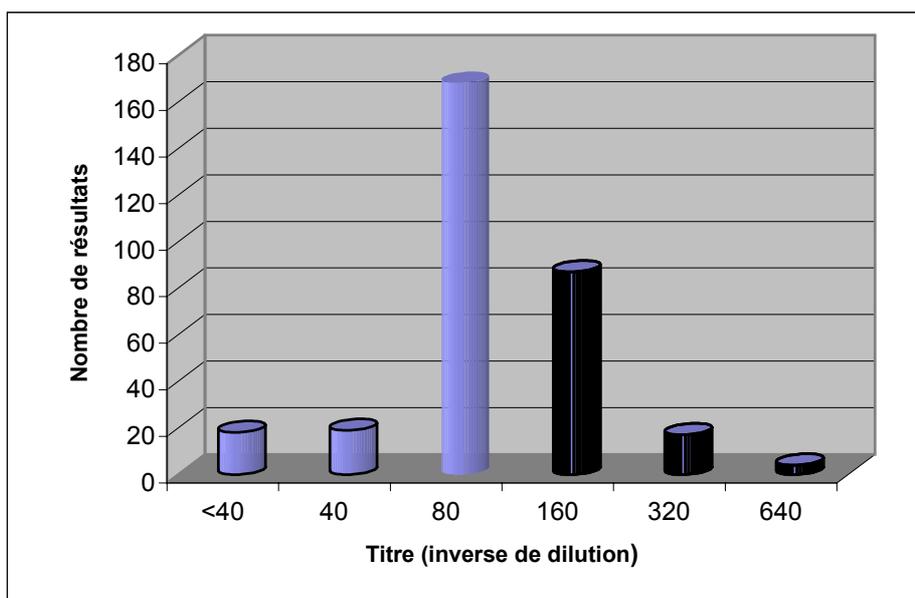
tableau X – répartition des réponses négatives (mauvaises réponses) en IFI par réactif

réactif	Nombre d'utilisateurs	Nombre de réponses négatives	Pourcentage de réponses négatives
BIO-RAD Quantafluor Lame HEp2 (Y 1118 0)	169	74	43,8
BIOADVANCE IF-HEp2 / Foie de primate	29	16	55,2
BIOADVANCE IF-HEp20-10 / Foie de primate	7	1	
BIOADVANCE IFI : HEp2 anti ANA	72	25	34,7
BIOADVANCE IFI : HEp20-10 anti ANA	63	26	41,3
BIOMEDICAL DIAGNOSTICS ANA Test	2	2	
BIOMEDICAL DIAGNOSTICS Coffret Hep 2000	21	14	66,7
BIOMEDICAL DIAGNOSTICS Coffret HEp 2000 (ANA-Ro)	76	50	65,8
BIOMEDICAL DIAGNOSTICS HEp 2000 (lames et conjugué)	36	22	61,1
DIAMED Kit Tests AAN HEp2 coffret complet (Gamme ZEUS)	13	8	61,5
DIAMED Lame HEp2 (Gamme ZEUS)	8	5	
IMMUNOCONCEPT ANA-Ro fluorescent HEp2000	2	2	
INGEN ANA HEp2 IFI	3	1	
INSTITUT J.BOY HEp2.ANA	4	3	
INSTITUT J.BOY LAMES HEp2	1	1	
MENARINI DIAGNOSTICS Nova- lite ANA HEp2	13	9	69,2
MERIDIAN ANA HEp2 IF Test System	4	1	
ORGENTEC Cellules HeP2 Coffret	7	3	
ORGENTEC Cellules HeP2 lames	2	2	
SERVIBIO Fluoro HEPANA test	5	5	
THE BINDING SITE Kit ANA cellules HEp2	19	11	57,9
THE BINDING SITE Lames HEp2	2	1	

Concernant le titre des anticorps anti-nucléaires, 313 laboratoires ont rendu un résultat. Parmi ces 313 laboratoires, 32 ont rendu un titre bien qu'ayant trouvé un dépistage négatif. La répartition des titres rendus par ces 32 laboratoires est la suivante : 12 titres égaux à la dilution de dépistage, 19 titres inférieurs à la dilution de dépistage et 1 titre supérieur à la dilution de dépistage.

La figure 3 montre la répartition des 313 résultats.

figure 3 - répartition des titres de l'échantillon 05G8 en inverse de dilution



Concernant l'aspect de la fluorescence, 82,5% des laboratoires ayant rendu un dépistage positif ou douteux ont observé un aspect homogène (tableau XI).

tableau XI - aspect de la fluorescence sur cellules HEp2 – Echantillon 05G8

Aspect de la fluorescence	Nombre de réponses
Homogène	231
Moucheté	43
Nucléolaire	2
Centromère	2
Cerclé (périphérique)	1
Cytoplasmique	1

1 – 3 Analyses des réponses

Concernant la mise en œuvre de l'immunofluorescence indirecte, 5,3% des laboratoires utilisent une dilution de dépistage inadaptée (< 1 :40 ou > 1 :100). De même, 5% des participants ont employé un grossissement inadéquat pour la recherche d'anticorps anti-nucléaires (< 40 ou > 50).

2 – Anticorps anti-ADN natif

Le nombre de laboratoires ayant effectué la recherche d'anticorps anti-ADN natif est de 368.

2 – 1 Matériel et méthodes

Les réactifs utilisés font appel à diverses techniques (tableau XII). La plus employée est l'immunofluorescence indirecte avec 46% d'utilisateurs. Puis, vient l'ELISA avec 33% d'utilisateurs et l'immunodot avec 15,8%. Les techniques RIA et celles d'agglutination de particules de latex sont peu représentées, avec respectivement 1,9 et 1,7% d'utilisateurs. Enfin, est apparue une technique non employée en 2003 : la cytométrie en flux avec 1,7% d'utilisateurs.

tableau XII – réactifs utilisés pour l'identification d'anticorps anti-ADN natif

<i>Technique</i> / réactif	Nombre de laboratoires
Immunofluorescence	166 (soit 46%)
BIOADVANCE IFI : crithidia luciliae anti-nDNA	45
BIO-RAD Quantafluor ADN / Crithidia luciliae	55
BMD Coffret de détection des anticorps anti DNA natifs	17
BMD Recherche des anticorps anti DNAn par IFI	28
DIAMED Lame Crithidia Luciliae (gamme Zeus)	1
DIAMED Tests Ds-DNA coffret complet (gamme Zeus)	4
MENARINI DIAGNOSTICS Nova lite ADN db	3
MERIDIAN Anti - n DNA IF Test System	1
ORGENTEC Critidia luciliae Coffret	3
THE BINDING SITE Coffret DNA db crithidia luciliae	5
Technique "maison" : IFI	4
Elisa	119 (soit 33%)
BIOADVANCE Elisa anti-dsDNA	13
BIOMEDICAL DIAGNOSTICS DNA/Nuc-LISA	4
BIOMEDICAL DIAGNOSTICS DNA-LISA	13
BIO-RAD Kallestad anti - ds DNA microplate EIA	25
DIAMED Is anti-ds DNA (gamme Diamedix)	1
DIASORIN Eti-ds DNA	5
ORGENTEC Anti-dsDNA Screen	2
PHARMACIA EliA ds DNA Well	34
PHARMACIA Varelista dsDNA antibodies EIA	7
PHARMACIA Varelista Recombi ANA profile	7
THE BINDING SITE Bindazyme (anti-DNA double brin)	6
Technique "maison" : ELISA	2
Immunodot	57 (soit 15,8%)
BIOADVANCE Euroassay anti-ENA profil, dsDNA	7
BIOADVANCE Euroassay profil SLE	2
BIOADVANCE Euroline ANA Profil 3	4
BIOMEDICAL DIAGNOSTICS DNA-Dot	44
RIA	7 (soit 1,9%)
DPC Anti-ADN (Farr)	5
Trinity Biotech anti-ADN db	2
Latex	6 (soit 1,7%)
DIAGNOSPHERE BIOCONTROL Visualine ADNn	3
SERVIBIO Servitex anti n DNA	3
Cytométrie en flux	6 (soit 1,7%)
BMD Fidis connective 10	6

2 – 2 Résultats

Les 367 réponses qualitatives se répartissent comme suit :

- 304 résultats négatifs
- 57 résultats positifs
- 6 résultats douteux.

Parmi les résultats faussement positifs en anticorps anti-ADN natif, 10% des laboratoires (5/50) avaient rendu un résultat négatif en anticorps anti-nucléaires (tableau XIII).

tableau XIII – résultats dépistage AAN / identification ADN natif

		AAN dépistage	
		Négatif	Positif
Identification ADN natif	Négatif	123	178*
	Positif	5	45

* réponse attendue

2 – 3 Analyse des résultats

Les 57 réponses faussement positives ne peuvent pas être reliées à un réactif particulier. Les techniques d'immunofluorescence, d'ELISA et d'immunodot ont donné respectivement 18,7% (31/166), 14,3% (13/119) et 15,8% (9/57) de résultats faussement positifs.

3 – Anticorps anti-antigènes nucléaires solubles

282 laboratoires ont fait une recherche d'anticorps anti-antigènes nucléaires solubles (test de dépistage global ou d'identification de la spécificité).

3 – 1 Matériel et méthodes

Le tableau XIV répertorie les réactifs utilisés par les laboratoires, un même laboratoire pouvant utiliser 2 réactifs différents. Plus de la moitié des tests (54%) sont réalisés par une technique d'immunodot. La technique ELISA suit de près avec 42% d'utilisateurs. Quelques laboratoires utilisent les techniques d'Ouchterlony (2%) et de cytométrie en flux (1,7%)

tableau XIV – réactifs utilisés pour la recherche d'anticorps anti-antigènes nucléaires solubles

Réactif	Nombre d'utilisateurs
IMMUNODOT	161 (54,0%)
ALL DIAG ENACHECK	9
BIOADVANCE Euroassay anti-ENA Profil plus	29
BIOADVANCE Euroassay Profil SLE	5
BIOADVANCE Euroassay Profil, dsDNA	6
BIOADVANCE Euroassay Profil, M2	4
BIOADVANCE Euroline ANA Profil 1	2
BIOADVANCE Euroline ANA Profil 3	12
BIOMEDICAL DIAGNOSTICS ENA Dot 7	75
DIASORIN ANA 9 dot (GAMME D-teck)	1
DIASORIN Conectivitis Dot	1
DIASORIN LUPUS Dot	1
DIASORIN Nucleosome + ENA Dot	3
INGEN / INNOGENETICS Inno-lia ANA update	13
ELISA	126 (42,3%)
BIOADVANCE Elisa anti ENA pool plus	2
BIOADVANCE Elisa anti ENA profil plus	21
BIOMEDICAL DIAGNOSTICS ENA -LISA	16
BIO-RAD ANA 6 Profile	11
BIO-RAD Anti J0-1 EIA	1
BIO-RAD ENA Screen microplate EIA	8
BMD ENA-LISA polyvalent	10
BMD ENA-LISA Scl70-JO-1	2
DIASORIN Eti-ENA 6 screen	2
MENARINI Quanta lite ENA 5 Elisa	1
ORGENTEC ANA Screen	1
ORGENTEC ENA Combi	1
ORGENTEC ENA Screen	1
ORGENTEC NUCLEO-9	1
PHARMACIA Symphony Well	25
PHARMACIA Varelisa ANA profile	2
PHARMACIA Varelisa Recombi ANA 4 profile	1
PHARMACIA Varelisa Recombi ANA 8 Screen	2
PHARMACIA Varelisa Recombi ANA profile	5
PHARMACIA Varelisa Recombi ANA Screen	1
Technique "maison" : Electrosynérèse	4
THE BINDING SITE Anti-Nucléaires Profile	1
THE BINDING SITE Bindazyme ENA : dépistage	7
OUCHTERLONY	6 (2,0%)
BMD Anticorps anti antigènes solubles	3
BMD Coffret auto IDSSA/SSB/SM/RNP	1
INGEN Antigène nucléaire soluble ENA (P 4083 2)	1
Technique "maison" : Ouchterlony	1
CYTOMETRIE EN FLUX	5 (1,7%)
BMD FIDIS connective 10	5

3 – 2 Résultats

Sur les 282 laboratoires ayant participé, 77 ont donné 2 réponses soit avec 2 réactifs différents soit avec le même réactif mais pour 2 spécificités différentes.

Parmi les réactifs utilisés par les participants, certains permettent de rechercher des auto-anticorps autres que les anticorps anti-antigènes nucléaires solubles.

Si nous analysons uniquement les réponses correspondant à la recherche des « vrais » anticorps anti-antigènes nucléaires solubles (Ac anti-Sm, RNP, SS-A, SS-B, SCL70, Jo1), nous obtenons 325 résultats dont 322 résultats négatifs (soit 99,1%).

Nous avons cependant analysé 34 résultats pour la recherche d'anticorps anti-nucléosomes, anti-histones ou anti-centromère, sachant que ces spécificités ne correspondent pas à un antigène nucléaire soluble. On observe un pourcentage élevé de résultats positifs pour les spécificités anti-nucléosomes (82%) et anti-histones (68%).

Le tableau XV répertorie l'ensemble des 359 résultats.

tableau XV – résultats anticorps anti-antigènes nucléaires solubles

Spécificité	Résultat 05G8		
	négatif	douteux	positif
Anti-Ag nucléaires solubles	236		2
Anti-SSA (Ro)	34		
Anti-SSB (La)	18		
Anti-Sm	16		1
Anti-RNP	10		
Anti-Scl 70	5		
Anti-Jo1	3		
<i>Anti-nucléosomes*</i>		2	9
<i>Anti-histones*</i>	4	2	13
<i>Anti-centromère*</i>	4		

les valeurs en gras correspondent aux nombres de laboratoires ayant rendu un résultat attendu.

* spécificité recherchée par le laboratoire mais ne correspondant pas à un antigène nucléaire soluble.

4 – Commentaires

L'échantillon 05G8 de l'opération 05AT11 du contrôle national de qualité contenait des anticorps anti-nucléaires à titre faible (1 :160).

Environ 50% des participants ont rendu un résultat négatif. Sachant que ces résultats négatifs ne sont pas imputables à un réactif particulier, deux explications peuvent être données. Premièrement, il faut rappeler que l'immunofluorescence indirecte est une technique dont le principal inconvénient est la subjectivité de la lecture au microscope. Deuxièmement, nombreux sont les problèmes méthodologiques potentiels qui, lorsqu'ils s'ajoutent les uns aux autres, contribuent à exacerber la variabilité intra et inter-laboratoires du seuil de détection des anticorps anti-nucléaires en immunofluorescence indirecte. La mise en place de contrôles positifs titrés pourrait être un premier pas vers la standardisation.

En plus du problème de résultat, on constate que certains participants ont un raisonnement conclusif erroné. En effet, 37,5% des réponses négatives étaient accompagnées d'un titre d'anticorps anti-nucléaires supérieur à la dilution de dépistage utilisée. En toute logique, il aurait fallu rendre un résultat positif.

Enfin, l'échantillon ne contenait pas d'anticorps anti-DNA natif. Sur les 367 réponses obtenues, 18,4% sont faussement positives. Au vu des comptes-rendus individuels, il serait souhaitable que les laboratoires concernés mettent en place des actions correctives si nécessaire, compte tenu de la valeur diagnostique de cet auto-anticorps.