

Annales du contrôle national de qualité des analyses de biologie médicale

Immunopathologie

16AT11

Avril 2016

**Facteurs rhumatoïdes
Anticorps anti-CCP**

Janvier 2017

Anne GUYARD (ANSM)
Bach-Nga PHAM (CHU – Reims)

Expédition : 27 avril 2016

Clôture : 23 mai 2016

Edition des comptes-rendus individuels : 1^{er} septembre 2016

Paramètres contrôlés : **16G6 – 16G7 : Facteurs rhumatoïdes**

Anticorps anti-peptides cycliques citrullinés (anti-CCP)

Nombre de laboratoires concernés* : 685

Nombre de laboratoires participants** : 655

* Laboratoires ayant déclaré à l'Ansm pratiquer les analyses concernées par l'envoi

** Laboratoires ayant saisi un formulaire de réponse sur le site internet de l'Ansm

Résumé de l'opération

Les deux échantillons envoyés lors de l'opération 16ATI1 permettaient la recherche de facteurs rhumatoïdes et la recherche d'anticorps anti-peptides cycliques citrullinés (anti-CCP). La recherche de facteurs rhumatoïdes et d'anti-CCP a été effectuée par respectivement 550 et 342 laboratoires. L'échantillon 16G6 était positif en facteurs rhumatoïdes et négatif en anti-CCP et l'échantillon 16G7 était positif pour ces deux paramètres.

Les résultats qualitatifs des anticorps anti-CCP sont très satisfaisants. Les résultats quantitatifs de l'échantillon positif sont dépendants du réactif utilisé.

Pour les facteurs rhumatoïdes, les résultats qualitatifs sont globalement satisfaisants avec l'échantillon positif 16G7 et plus discordants avec l'échantillon 16G6 (positif faible) sur certaines techniques notamment.

Méthode statistique et expression des résultats

Les paramètres statistiques : effectif, médiane, moyenne et écart-type sont calculés à partir des données fournies par les laboratoires.

L'élimination des valeurs extrêmes est réalisée par la méthode de Tukey, puis les paramètres statistiques sont déterminés après deux troncatures à deux écarts-types. Cette procédure a été appliquée au groupe toutes techniques et à chaque groupe technique. Le nombre de groupes techniques (réactifs) étant élevé et les effectifs faibles pour certains groupes, les paramètres statistiques ont été rendus pour des effectifs ≥ 5 . En raison de la dispersion des moyennes par réactif (groupe technique), la moyenne générale tous réactifs confondus est rendue à titre d'information.

Dans les tableaux de résultats des méthodes quantitatives figurent :

- les effectifs non tronqués (n) après élimination des valeurs aberrantes (méthode de Tukey)
- la moyenne tronquée (Moyenne), l'écart-type tronqué (ET) et le coefficient de variation tronqué (CV) calculé par la formule $100 \times ET / Moyenne$.

Dans les tableaux de résultats des méthodes semi-quantitatives figurent :

- les effectifs non tronqués (n) après élimination des valeurs aberrantes (méthode de Tukey)
- la médiane (Médiane) et les percentiles 25 et 75 (P25 ; P75).

Echantillons 16G6 et 16G7

Recherche de facteurs rhumatoïdes

Recherche d'anticorps anti-peptides cycliques citrullinés (anti-CCP)

Le nombre de laboratoires ayant effectué au moins une des analyses Recherche de facteurs rhumatoïdes ou Recherche d'anticorps anti-peptides cycliques citrullinés sur les échantillons 16G6 ou 16G7 est de 571.

La répartition selon les analyses est la suivante :

- 550 laboratoires ont effectué la recherche de facteurs rhumatoïdes
- 342 laboratoires ont effectué la recherche d'anticorps anti-peptides cycliques citrullinés,
- 321 laboratoires ont effectué les deux analyses.

Définition des échantillons

Les échantillons 16G6 et 16G7 étaient des sérums liquides d'origine humaine.

Ces échantillons ont été testés par des biologistes référents avant envoi : Pr B. N. Pham (CHU Reims), Dr N. Fabien (CH Lyon Sud) et Dr S. Dubucquoi (CHU Lille).

Les résultats des experts et des participants ont permis de définir pour les trois échantillons la réponse attendue (consensus) présentée dans le tableau I.

tableau I – réponse attendue (consensus) Facteurs rhumatoïdes et anticorps anti-CCP

	Echantillons	
	16G6	16G7
Facteurs rhumatoïdes	Faiblement positif	Positif
Anticorps anti-CCP	Négatif	Positif

Résultats des participants

1 – Recherche de facteurs rhumatoïdes

Le formulaire de réponse sur internet permettait de rendre les résultats qualitatifs et, dans le cas de méthodes quantitatives ou semi-quantitatives, les résultats quantitatifs en UI/mL. Il était possible de rendre les résultats obtenus avec un deuxième réactif. La spécificité (immunoglobulines humaines ou immunoglobulines animales) et le seuil de positivité du réactif devaient être renseignés.

550 laboratoires ont participé à cette analyse ; plus précisément, 550 ont rendu au moins une réponse qualitative ou quantitative sur au moins un des 2 échantillons avec un réactif et 239 d'entre eux ont rendu une réponse avec un deuxième réactif.

1 – 1 – Techniques et réactifs

Les réactifs utilisés (réactif 1 et réactif 2 compilés) sont détaillés dans le tableau II. Par commodité, les réactifs de dépistage uniquement ou donnant un résultat semi-quantitatif ou quantitatif ont été répertoriés dans le même tableau.

tableau II – réactifs utilisés pour la recherche des facteurs rhumatoïdes

Réactif	Effectif
Agglutination (Latex)	110
BIOKIT Rheumajet RF	10
BIOLYS Futura FR latex	11
BIOMERIEUX Arthri slidex	4
ELITECH Elitex Bicolor RF	14
FUMOUCHE RhumalateX	66
SERVIBIO Servitex RF	2
SIEMENS Rheumatoid rapitex RF	1
SPINREACT RF-LATEX	2
Hémagglutination (Waalser-Rose)	162
BIOKIT Celarkit AR	12
BIOLYS Futura FR Waaler Rose	6
BIOMERIEUX Waaler Rose Slide test (<i>dépistage</i>)	13
BIOMERIEUX Waaler Rose kit (<i>semi-quantitatif</i>)	23
ELITECH Waaler Rose Bicolor	11
FUMOUCHE Polyartest (<i>dépistage</i>)	36
EUROBIO Waaler Rose	1
FUMOUCHE Polyartite (<i>semi-quantitatif</i>)	52
INSTRUMENTATION LABORATORY Celarkit	1
SERVIBIO Servitex Waaler Rose	1
SIEMENS Cellognost	1
SPINREACT RF-Waaler Rose	5
ImmunoDot	19
ALL.DIAG Rhumatop Animal	10
ALL.DIAG Rhumatop Human	8
THERADIAG FR DOT IgM	1
Immunoenzymologie	135
BIO ADVANCE ELISA anti-facteurs rhumatoïdes (IgM)	3
DIASORIN/CAMBRIDGE LIFE SCIENCES Autozyme RF	1
INGEN Aeskulisa RF-IgM	1
EURODIAGNOSTICA ImmuLisa RF-IgM	1
INOVA QUANTA Lite RF-IgM	3
ORGENTEC Rheumatoid Factor IgM	24
ORGENTEC Rheumatoid Factor IgA	1
ORGENTEC Rheumatoid Factor screen	1
PHADIA/ THERMOFISCHER ELIA RF IgA	1
PHADIA/ THERMOFISCHER ELIA RF IgM	83
THERADIAG FR LISA IgM	16
Turbidimétrie/Néphélométrie	346
ABBOTT Architect Facteur rhumatoïde	55
BECKMAN COULTER facteur rhumatoïde Immage	1
BECKMAN COULTER facteur rhumatoïde Synchron	1
BECKMAN COULTER RF Latex AU	48
BINDING SITE Facteur rhumatoïde SPA plus	9
BIOKIT Quantex RF II (3000-2333)	4
ORTHO CLINICAL DIAGNOSTIC Vitros RF	15
PHADIA/ THERMOFISCHER Rheumatoid factors 2 (RF2) Konelab	2
ROCHE Intégra / Cobas 6000 Facteur rhumatoïde (20764574)	134
ROCHE Modular/Hitachi Facteur rhumatoïde (03004902)	5
SENTINEL RF latex Autom NG / SIEMENS Dimension	6
SIEMENS Advia Chemistry Rheumatoid Factor	32
SIEMENS Dimension Vista RF (K7068)	15
SIEMENS N latex FR	19

Cytométrie en flux	9
THERADIAG FIDIS RHEUMA-FR	9
Réactif "maison"	3
Autres	5
total	789

Schématiquement, un peu plus d'un tiers des résultats (291) a été rendu avec des réactifs d'agglutination, d'hémagglutination ou d'immunodot, et presque deux-tiers (490) avec des réactifs d'immunoenzymologie, de turbidimétrie/néphélémétrie ou de cytométrie en flux.

Les techniques utilisées par les 231 laboratoires qui ont utilisé deux réactifs (généralement réactif de dépistage puis réactif semi-quantitatif ou quantitatif) se répartissent selon les couples présentés dans le tableau III.

tableau III – Principaux couples de techniques utilisés par les laboratoires

Techniques	Nombre de laboratoires
Agglutination (Latex) et Hémagglutination (Waalser-Rose)	97
Hémagglutination (Waalser-Rose) et Turbidimétrie/Néphélémétrie	59
Immunoenzymologie et Turbidimétrie/Néphélémétrie	40
Immunoenzymologie et Immunoenzymologie	12
ImmunoDot et ImmunoDot	6
Agglutination (Latex) et Immunoenzymologie	6
ImmunoDot et Turbidimétrie/Néphélémétrie	4
Autres associations	7
total	231

Des résultats qualitatifs ont été rendus par 524 laboratoires qui ont utilisé un ou deux réactifs.

Des résultats quantitatifs ont été rendus par 547 laboratoires.

L'ensemble des résultats qualitatifs et quantitatifs a été rendu par 550 laboratoires sur au moins 1 des 2 échantillons avec 1 ou 2 réactifs. Une partie des laboratoires ayant rendu un résultat quantitatif a donc omis de rendre le résultat qualitatif (négatif ou positif) correspondant.

Les résultats sont présentés successivement pour chaque échantillon.

1- 2 – Echantillon 16G6 - Résultats qualitatifs et quantitatifs

Pour l'échantillon 16G6 rendu majoritairement « positif », les résultats qualitatifs et quantitatifs en fonction des réactifs utilisés figurent dans le tableau IV ; pour les méthodes semi-quantitatives : médiane et percentiles 25 et 75, pour les méthodes quantitatives : moyenne, écart-type et CV.

Les figures 1 et 2 présentent la répartition des résultats des méthodes semi-quantitatives et quantitatives.

tableau IV – facteurs rhumatoïdes - Echantillon 16G6 - résultats qualitatifs et quantitatifs rendus par les participants*

	Résultats qualitatifs		Résultats des méthodes semi-quantitatives			
	Négatif	Positif	n	Médiane (UI/mL)	P25	P75
Agglutination (Latex)	24	85				
BIOKIT Rheumajet RF		9	10	60	40	80
BIOLYS Futura FR latex	10	1	1			
BIOMERIEUX Arthri slidex	4					
ELITECH Elitex Bicolor RF	1	13	13	32	32	128
FUMOUCHE RhumalateX	6	60	57	42	42	84
SERVIBIO Servitex RF	1	1	1			
SIEMENS Rheumatoid rapitex RF		1	1			
SPINREACT RF-LATEX	2					
Hémagglutination (Waalser-Rose)	103	57				
BIOKIT Celarkit AR		12	12	120	30	200
BIOLYS Futura FR Waaler Rose	4	2	2			
BIOMERIEUX Waaler Rose Slide test (dépistage)	12	1	**			
BIOMERIEUX Waaler Rose kit (semi-quantitatif)	19	4	12	16	13	18
ELITECH Waaler Rose Bicolor	2	9	8	32	16	64
EUROBIO Waaler Rose		1	1			
FUMOUCHE Polyartest (dépistage)	22	13	**			
FUMOUCHE Polyartitre (semi-quantitatif)	36	15	32	8	8	16
INSTRUMENTATION LABORATORY Celarkit	1					
SERVIBIO Servitex Waaler Rose	1					
SIEMENS Cellognost	1		1			
SPINREACT RF-Waaler Rose	5		1			
ImmunoDot	14	5				
ALL.DIAG Rhumatop Animal	9	1				
ALL.DIAG Rhumatop Human	5	3	2			
THERADIAG FR DOT IgM		1	**			
				Résultats des méthodes quantitatives		
			n	Moyenne (UI/mL)***	ETtr (UI/mL)	CV (%)
Immunoenzymologie	1	130				
BIO ADVANCE ELISA anti-facteurs rhumatoïdes (IgM)		3	3			
DIASORIN/CAMBRIDGE LIFE SC. Autozyme RF		1	1			
EURODIAGNOSTICA ImmuLisa RF-IgM			1			
INGEN Aeskulisa RF-IgM			1			
INOVA QUANTA Lite RF IgM		3	1			
ORGENTEC Rheumatoid Factor IgM		24	23	[20]	36,6	5,3
ORGENTEC Rheumatoid Factor IgA		1	1			
ORGENTEC Rheumatoid Factor screen		1	1			
PHADIA/ THERMOFISCHER ELIA RF IgA		1	1			
PHADIA/ THERMOFISCHER ELIA RF IgM		81	83	[3,5-5]	12,1	1,6
THERADIAG FR LISA IgM (spécif. animale)	1	7	8	[25-30]	38,8	8,2
THERADIAG FR LISA IgM (spécif. humaine)		8	8	[15-20]	127,9	20,7
Turbidimétrie/Néphélométrie	12	304				
ABBOTT Architect Facteur rhumatoïde		54	53	[30]	56,1	1,2
BECKMAN COULTER facteur rhumatoïde Immage		1	1			
BECKMAN COULTER facteur rhumatoïde Synchron			1			
BECKMAN COULTER RF Latex AU	2	42	48	[14]	20,3	1,4
BINDING SITE Facteur rhumatoïde SPA plus		8	8	[13]	25,4	2,0
BIOKIT Quantex RF II (3000-2333)		4	4			
ORTHO CLINICAL DIAGNOSTIC Vitros RF	1	12	15	[12]	18,2	0,7
PHADIA/ THERMOFISCHER Rheum. fact. 2 (RF2) Konelab		2	2			
ROCHE Intégra / Cobas 6000 Fact. rhum.(20764574)	3	117	131	[14]	21,9	0,7
ROCHE Modular/Hitachi Facteur rhum. (03004902)		5	4			
SENTINEL RF latex Autom NG / SIEMENS Dimension		6	6	[18]	25,6	3,7

SIEMENS Advia Chemistry Rheumatoid Factor		29	32	[14]	26,2	1,1	4,3
SIEMENS Dimension Vista RF (K7068)		11	14	[15]	18,2	1,3	7,2
SIEMENS N latex FR	6	13	18	[16]	18,9	1,8	9,3
Cytométrie en flux		9					
THERADIAG FIDIS RHEUMA-FR (spécif. animale)		5	5	[25-30]	85,0	12,8	15,0
THERADIAG FIDIS RHEUMA-FR (spécif. humaine)		4	4	[25-30]	****		
Réactif "maison"	1	2	3				
Autres	1	4	5				
Total	156	596	(80,3%)				

* Pour les 658 résultats quantitatifs de l'échantillon 16G6, à titre d'information : moyenne générale = 23,1 UI/mL ; médiane = 22 UI/mL

** réactif de dépistage

*** [] : seuils de positivité figurant dans les notices des réactifs

**** cytométrie en flux : un seul réactif – résultats individuels rendus à titre d'information (effectif < 5) : Theradiag FIDIS Rheuma-FR (spécif. humaine) : 243 ; 250 ; 253 ; 272 UI/mL

Les résultats qualitatifs sont majoritairement positifs (80,3 %) et avec une médiane de l'ensemble des résultats quantitatifs de 22 UI/mL, l'échantillon 16G6 peut être considéré comme un sérum faiblement positif.

Cependant certaines techniques montrent des pourcentages de résultats qualitatifs « positif » élevés comme les techniques d'Immunoenzymologie (99 %), de Turbidimétrie/Néphélémétrie (96 %) et de Cytométrie en flux (100 %) et un pourcentage intermédiaire avec l'Agglutination au latex (78 %). En revanche, avec les techniques d'Hémagglutination (Waalser-Rose) et d'ImmunoDot, les résultats sont majoritairement « négatif » (résultats « positif » respectivement de 36 % et 26 %) (tableau V).

tableau V – facteurs rhumatoïdes - Echantillon 16G6 – pourcentage de résultats qualitatifs « négatif » et « positif » par technique

	Résultats qualitatifs		
	Total	Négatif (%)	Positif (%)
Agglutination (Latex)	109	24 (22,0 %)	85 (78,0 %)
Hémagglutination (Waalser-Rose)	160	103 (64,4 %)	57 (35,6 %)
ImmunoDot	19	14 (73,7 %)	5 (26,3 %)
Immunoenzymologie	131	1 (0,8 %)	130 (99,2 %)
Turbidimétrie/Néphélémétrie	316	12 (3,8 %)	304 (96,2 %)
Cytométrie en flux	9	0 (0 %)	9 (100 %)
Réactifs « maison » ou autres	8	2 (25,0 %)	6 (75,0 %)

Les résultats qualitatifs rendus avec les différents réactifs en Hémagglutination sont majoritairement « négatif », excepté avec le réactif Biokit Celarkit AR (12/12 résultats « positif »).

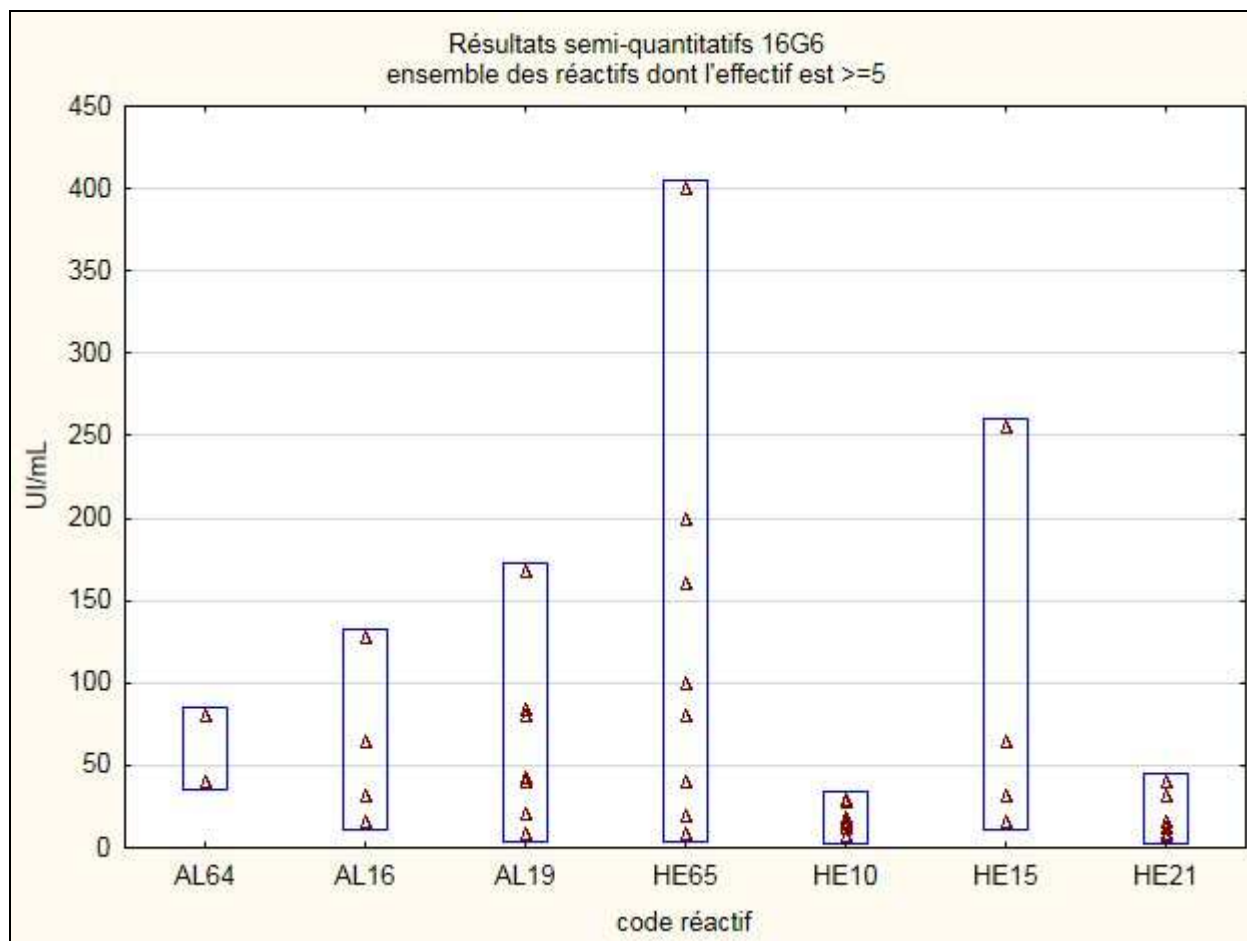
Parmi les réactifs d'Agglutination (latex) avec lesquels les résultats sont majoritairement « positif » (78 %), les performances varient également selon les réactifs, certains donnant quasi exclusivement des résultats « positif », d'autres presque en totalité des résultats « négatif ».

Les résultats qualitatifs obtenus avec les réactifs de Turbidimétrie/Néphélémétrie, très majoritairement « positif » (96 %), correspondent à des résultats quantitatifs dont les moyennes sont comprises entre 18,2 et 26,2 UI/mL pour 8 d'entre elles, la moyenne du réactif Abbott Architect étant un peu plus élevée (56 UI/mL). La dispersion intra-réactif est satisfaisante avec 8 CV < 10 % pour les 9 réactifs. Les 12 résultats qualitatifs « négatif » correspondent pour la plupart à des résultats quantitatifs proches de la moyenne du réactif mais inférieurs aux seuils rendus par les laboratoires, notamment pour 6 résultats du réactif Siemens N latex FR. L'échantillon 16G6, testé par Siemens a été confirmé positif faible (concentrations respectivement de 15 et 16,1 UI/mL avec les réactifs N latex FR et Dimension Vista RF).

Les réactifs d'Immunoenzymologie montrent des moyennes entre 12,1 et 38,8 UI/mL proches de celles de la Turbidimétrie/Néphélémétrie, hormis Theradiag FR LISA IgM (spécificité humaine) dont la moyenne est plus

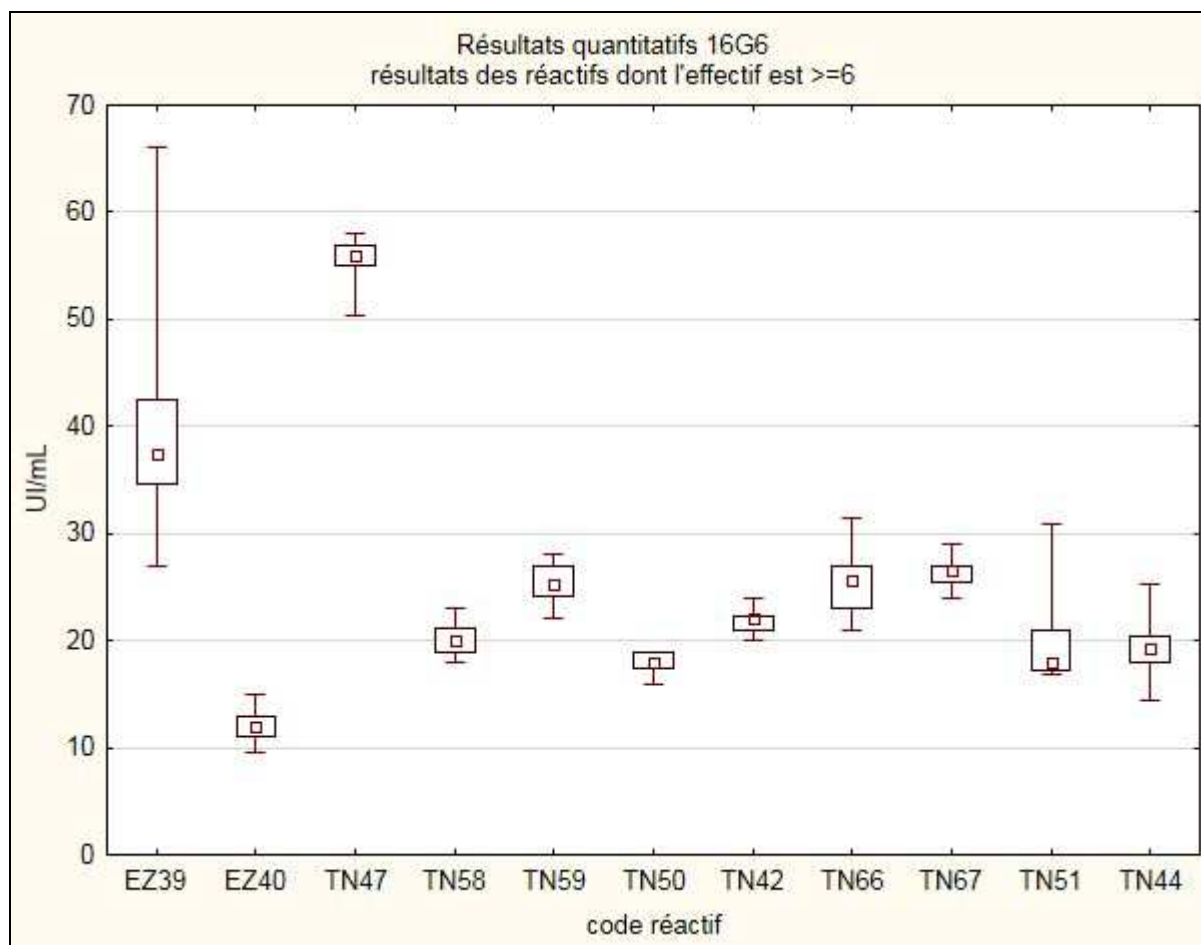
élevée (127,9 UI/mL). A noter que les 8 utilisateurs de Theradiag FR LISA IgM (spécificité humaine) ont également utilisé Theradiag FR LISA IgM (spécificité animale) dont la moyenne est de 38,8 UI/mL. Les médianes des techniques semi-quantitatives sont situées entre 32 et 60 UI/mL pour l'Agglutination au latex et sont plus dispersées pour l'Hémagglutination (entre 8 et 120 UI/mL).

figure 1 : résultats individuels des méthodes semi-quantitatives - Facteurs rhumatoïdes. Les boîtes représentent la dispersion intra-réactif et les triangles représentent les résultats individuels.



code	Réactif	code	Réactif
AL64	BIOKIT Rheumajet RF	HE65	BIOKIT Celarkit AR
AL16	ELITECH Elitex Bicolor RF	HE10	BIOMERIEUX Waaler Rose kit
AL19	FUMOUCHE Rhumatex	HE15	ELITECH Waaler Rose Bicolor
		HE21	FUMOUCHE Polyartite

figure 2 : graphique « boîte et moustaches » des résultats des méthodes quantitatives - Facteurs rhumatoïdes
 Les boîtes représentent l'espace interquartile (percentile 25 – percentile 75) ainsi que la position de la médiane (carré), les
 « moustaches » positionnent les percentiles 5 et 95.



Ne figurent pas sur le graphique, le réactif EZ13 Theradiag FR Lisa IgM et CF14 Theradiag Fidis Rheuma-FR (résultats distincts pour spécificité animale et spécificité humaine).

code	Réactif	code	Réactif
EZ39	ORGENTEC Rheumatoid Factor IgM	TN42	ROCHE Intégra/Cobas 6000 Facteur rhumatoïde
EZ40	PHADIA/ THERMOFISCHER ELIA RF IgM	TN66	SENTINEL RF latex Autom NG / SIEMENS Dimension
TN47	ABBOTT Architect Facteur rhumatoïde	TN67	SIEMENS Advia Chemistry Rheumatoid Factor
TN58	BECKMAN COULTER RF Latex AU	TN51	SIEMENS Dimension Vista RF
TN59	BINDING SITE Facteur rhumatoïde SPA plus	TN44	SIEMENS N latex FR
TN50	ORTHO CLINICAL DIAGNOSTIC Vitros RF		

1- 3 – Echantillon 16G7 - Résultats qualitatifs et quantitatifs

Pour l'échantillon 16G7 rendu majoritairement « positif », les résultats qualitatifs et quantitatifs en fonction des réactifs utilisés figurent dans le tableau VI ; pour les méthodes semi-quantitatives : médiane et percentiles 25 et 75, pour les méthodes quantitatives : moyenne, écart-type et CV.

Les figures 3 et 4 présentent la répartition des résultats des méthodes semi-quantitatives et quantitatives.

tableau VI – facteurs rhumatoïdes - Echantillon 16G7 - résultats qualitatifs et quantitatifs rendus par les participants*

	Résultats qualitatifs		Résultats des méthodes semi-quantitatives			
	Négatif	Positif	n	Médiane (UI/mL)	P25	P75
Agglutination (Latex)	3	105				
BIOKIT Rheumajet RF		9	9	160	80	160
BIOLYS Futura FR latex		11	10	64	32	64
BIOMERIEUX Arthri slidex		4	4			
ELITECH Elitex Bicolor RF		14	14	64	64	512
FUMOUCHE RhumalateX	3	62	59	84	84	168
SERVIBIO Servitex RF		2	2			
SIEMENS Rheumatoid rapitex RF		1	1			
SPINREACT RF-LATEX		2	2			
Hémagglutination (Waalser-Rose)	20	140				
BIOKIT Celarkit AR		12	12	90	57	360
BIOLYS Futura FR Waaler Rose		6	6	24	16	64
BIOMERIEUX Waaler Rose Slide test (<i>dépistage</i>)	11	1	**			
BIOMERIEUX Waaler Rose kit (<i>semi-quantitatif</i>)	1	22	22	115	64	128
ELITECH Waaler Rose Bicolor		11	10	64	48	128
EUROBIO Waaler Rose		1	1			
FUMOUCHE Polyartest (<i>dépistage</i>)	6	30	**			
FUMOUCHE Polyartite (<i>semi-quantitatif</i>)	1	50	51	32	32	64
INSTRUMENTATION LABORATORY Celarkit		1	1			
SERVIBIO Servitex Waaler Rose	1					
SIEMENS Cellognost		1	1			
SPINREACT RF-Waaler Rose		5	5	128	32	128
ImmunoDot		19				
ALL.DIAG Rhumatop Animal		10	4			
ALL.DIAG Rhumatop Human		8	3			
THERADIAG FR DOT IgM		1	**			
				Résultats des méthodes quantitatives		
			n	Moyenne (UI/mL)***	ETtr (UI/mL)	CV (%)
Immunoenzymologie	0	131				
BIO ADVANCE ELISA anti-facteurs rhumatoïdes (IgM)		3				
DIASORIN/CAMBRIDGE LIFE SC. Autozyme RF		1	1			
EURODIAGNOSTICA ImmuLisa RF-IgM						
INGEN Aeskulisa RF-IgM						
INOVA QUANTA Lite RF IgM		3				
ORGENTEC Rheumatoid Factor IgM		24	24	256,9	40,3	15,7
ORGENTEC Rheumatoid Factor IgA		1	1			
ORGENTEC Rheumatoid Factor screen		1	1			
PHADIA/ THERMOFISCHER ELIA RF IgA		1	1			
PHADIA/ THERMOFISCHER ELIA RF IgM		81	83	69,3	8,1	11,7
THERADIAG FR LISA IgM (spécif. animale)		8	8	123,1	13,9	11,3
THERADIAG FR LISA IgM (spécif. humaine)		8	7	244,4	23,8	9,7
Turbidimétrie/Néphélométrie	1	315				
ABBOTT Architect Facteur rhumatoïde		54	55	97,2	1,9	2,0
BECKMAN COULTER facteur rhumatoïde Image		1	1			
BECKMAN COULTER facteur rhumatoïde Synchron			1			
BECKMAN COULTER RF Latex AU		44	48	97,8	2,9	2,9
BINDING SITE Facteur rhumatoïde SPA plus		8	9	136,4	33,5	24,6
BIOKIT Quantex RF II (3000-2333)		4	4			
ORTHO CLINICAL DIAGNOSTIC Vitros RF		13	14	91,6	1,6	1,7
PHADIA/ THERMOFISCHER Rheum. fact. 2 (RF2) Konelab		2	2			
ROCHE Intégra / Cobas 6000 Fact. rhum.(20764574)		120	133	97,9	2,6	2,6
ROCHE Modular/Hitachi Facteur rhum. (03004902)		5	5	100,8	3,3	3,3
SENTINEL RF latex Autom NG / SIEMENS Dimension		6	6	119,9	31,1	25,9

SIEMENS Advia Chemistry Rheumatoid Factor	1	28	29	145,6	14,3	9,8
SIEMENS Dimension Vista RF (K7068)		11	15	111,9	6,5	5,8
SIEMENS N latex FR		19	19	109,5	3,9	3,6
Cytométrie en flux		9				
THERADIAG FIDIS RHEUMA-FR (spécif. animale)		5	3			
THERADIAG FIDIS RHEUMA-FR (spécif. humaine)		4				
Réactif "maison"		3	2			
Autres		5	5			
Total	24	727 (96,8%)				

* Pour les 722 résultats quantitatifs de l'échantillon 16G7, à titre d'information : moyenne générale = 92,4 UI/mL ; médiane = 97 UI/mL

** réactif de dépistage

*** cytométrie en flux : un seul réactif – résultats individuels rendus à titre d'information (effectif < 5) :

Theradiag FIDIS Rheuma-FR (spécif. animale) : 230 ; 297 ; 298 ; 299 ; 324 UI/mL

Theradiag FIDIS Rheuma-FR (spécif. humaine) : 552 ; 570 ; 579 ; 582 UI/mL

En termes de résultats qualitatifs, les résultats de l'échantillon 16G7 sont satisfaisants (98,7 % de réponses qualitatives « positif »). Les résultats sont très satisfaisants avec les réactifs d'Agglutination (latex), d'Immunodot, d'Immunoenzymologie, de Turbidimétrie/Néphélémétrie et de Cytométrie en flux (97 à 100 % de résultats « positif »). La plupart des réactifs d'Hémagglutination (Waler-Rose) rendent des résultats « positif » (87 %), excepté en particulier le réactif Biomérieux Waler Rose Slide test (réactif de dépistage) avec 11 / 12 résultats « négatif ».

L'échantillon 16G7, testé par le fabricant Biomérieux avec le réactif Biomérieux Waler Rose Slide test a été confirmé positif avec une faible agglutination. Il est rappelé qu'il faut respecter les instructions de la notice, notamment « imprimer à la carte un lent mouvement de rotation ». Des études complémentaires sont en outre en faveur d'une interférence non identifiée mais levée par une dilution au 1/5. Ces éléments montrent une insuffisance de robustesse de ce réactif. Plus en accord avec les résultats attendus, le réactif Biomérieux Waler Rose kit (semi-quantitatif) quant à lui montre 22 / 23 résultats « positif » avec une médiane à 115 UI/mL.

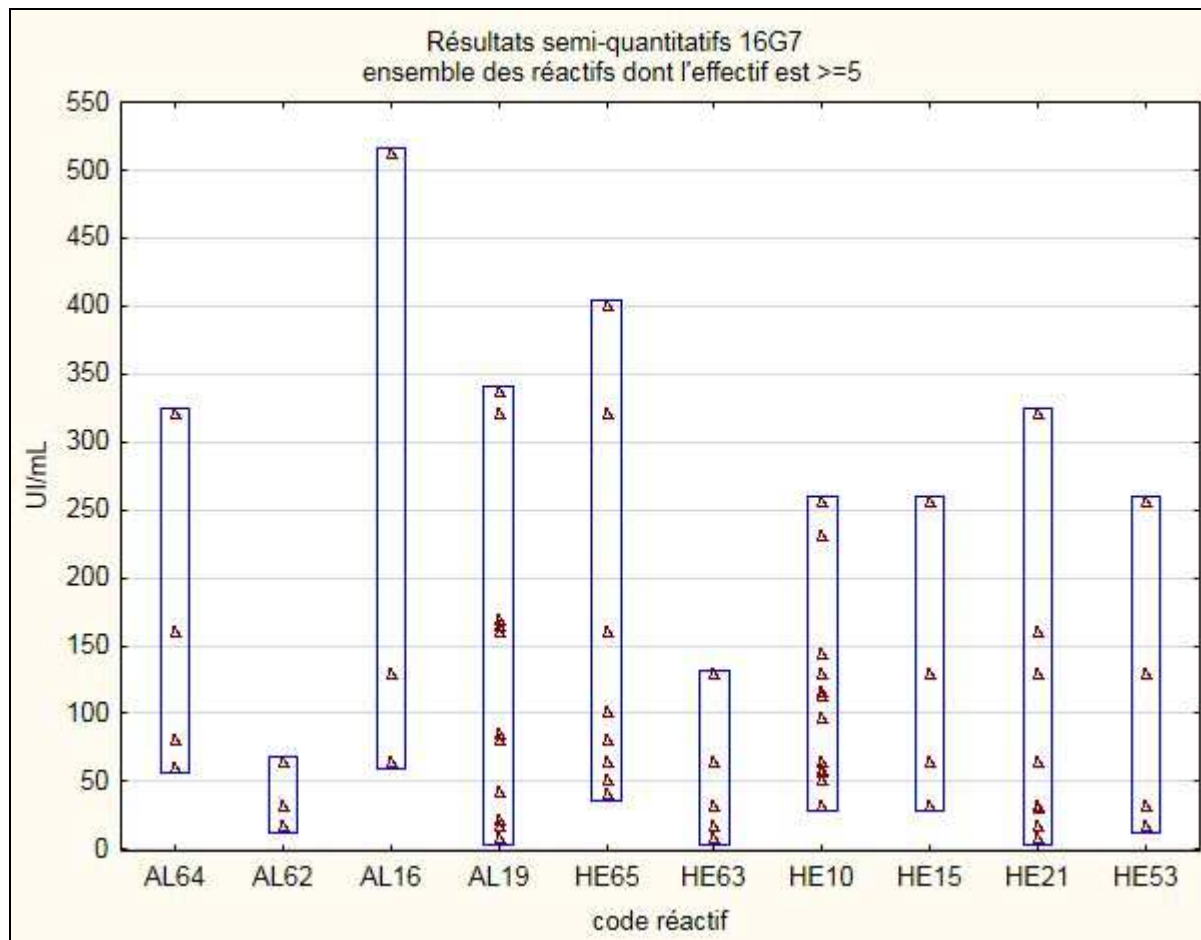
En termes de résultats qualitatifs, l'échantillon 16G7 est un sérum nettement positif (médiane = 97 UI/mL).

Les résultats obtenus avec les réactifs de Turbidimétrie/Néphélémétrie, les plus nombreux, montrent des moyennes situées entre 91,6 et 145,6 UI/mL. Avec les réactifs d'Immunoenzymologie, les moyennes sont entre 69,3 et 256,9 UI/mL. La dispersion intra-réactif est modérée avec, selon les réactifs, des CV de 1,7 à 15,7 %, excepté pour 2 réactifs ayant un CV de 25 %.

Les médianes des techniques semi-quantitatives sont situées entre 64 et 160 UI/mL pour l'Agglutination au latex et entre 24 et 128 UI/mL pour l'Hémagglutination. Bien que les résultats de ces techniques puissent être exprimés en UI/mL, le résultat en UI/mL est fonction du résultat en inverse de dilution et les résultats des différents laboratoires ne constituent pas une suite de valeurs continues.

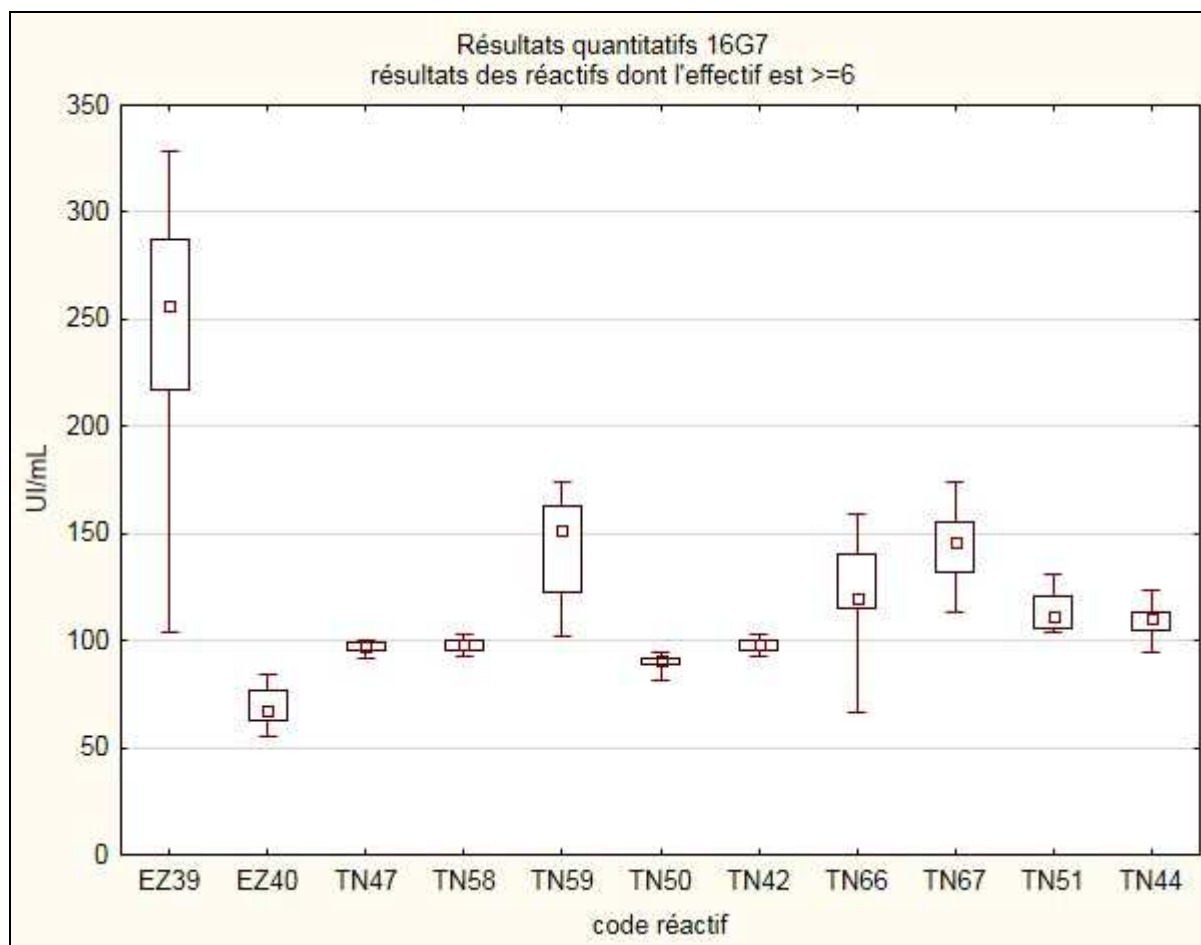
On note que les 24 résultats qualitatifs rendus « négatif » correspondent à 23 laboratoires : 21 d'entre eux ont rendu par ailleurs un résultat avec un autre réactif dont le résultat est correct (positif), un laboratoire a rendu deux résultats « négatif » avec deux réactifs et le dernier n'a rendu qu'un résultat.

figure 3 : résultats individuels des méthodes semi-quantitatives - Facteurs rhumatoïdes. Les boîtes représentent la dispersion intra-réactif et les triangles représentent les résultats individuels.



code	Réactif	code	Réactif
AL64	BIOKIT Rheumajet RF	HE63	BIOLYS Futura FR Waaler Rose
AL62	BIOLYS Futura FR latex	HE10	BIOMERIEUX Waaler Rose kit
AL16	ELITECH Elitex Bicolor RF	HE15	ELITECH Waaler Rose Bicolor
AL19	FUMOUCHE Rhumatex	HE21	FUMOUCHE Polyartitre
HE65	BIOKIT Celarkit AR	HE53	SPINREACT RF-Waaler Rose

figure 4 : graphique « boîte et moustaches » des résultats des méthodes quantitatives Facteurs rhumatoïdes
 Les boîtes représentent l'espace interquartile (percentile 25 – percentile 75) ainsi que la position de la médiane (carré), les
 « moustaches » positionnent les percentiles 5 et 95.



Ne figurent pas sur le graphique, le réactif EZ13 Theradiag FR Lisa IgM et CF14 Theradiag Fidis Rheuma-FR (résultats distincts pour spécificité animale et spécificité humaine).

code	Réactif	code	Réactif
EZ39	ORGENTEC Rheumatoid Factor IgM	TN42	ROCHE Intégra/Cobas 6000 Facteur rhumatoïde
EZ40	PHADIA/ THERMOFISCHER ELIA RF IgM	TN66	SENTINEL RF latex Autom NG / SIEMENS Dimension
TN47	ABBOTT Architect Facteur rhumatoïde	TN67	SIEMENS Advia Chemistry Rheumatoid Factor
TN58	BECKMAN COULTER RF Latex AU	TN51	SIEMENS Dimension Vista RF
TN59	BINDING SITE Facteur rhumatoïde SPA plus	TN44	SIEMENS N latex FR
TN50	ORTHO CLINICAL DIAGNOSTIC Vitros RF		

1- 4 – Commentaires

La Nomenclature des Actes de Biologie médicale (NABM) indique que la recherche quantitative des facteurs rhumatoïdes se fait par les méthodes du groupe 1 : réaction de Waaler-Rose ou autre méthode utilisant des immunoglobulines animales et du groupe 2 : méthodes utilisant des immunoglobulines humaines.

La répartition du type de réactifs utilisés par laboratoire pour la recherche de facteurs rhumatoïdes figure dans le tableau VII. Sont regroupés dans les réactifs semi-quantitatifs, les réactifs utilisant des techniques d'agglutination en latex sur lame, d'hémagglutination ou Waaler-Rose et d'immunodot, et dans les réactifs

quantitatifs, les réactifs utilisant des techniques d'Immunoenzymologie, de Turbidimétrie ou Néphélémétrie et en Cytométrie en flux.

tableau VII – facteurs rhumatoïdes - répartition du type de réactifs utilisés par laboratoire

Type de réactifs utilisés	Effectif	%
1 quantitatif	302	54,9
2 semi-quantitatifs	105	19,1
1 quantitatif et 1 semi-quantitatif	74	13,5
2 quantitatifs	57	10,4
1 semi-quantitatif	4	0,7
au moins 1 réactif "autre" (non répertorié)	8	1,5
Total	550	

En prenant en compte la spécificité (immunoglobulines humaines ou immunoglobulines animales) des réactifs, on dénombre

- 213 laboratoires utilisant comme unique réactif un réactif quantitatif de spécificité humaine,
- 97 laboratoires réalisant une technique d'hémagglutination (Waalser-Rose – spécificité animale) et une technique d'agglutination en latex (spécificité humaine),
- 54 laboratoires utilisant un réactif d'hémagglutination (Waalser-Rose – spécificité animale) et un réactif quantitatif de spécificité humaine,
- 25 laboratoires utilisant comme unique réactif un réactif quantitatif de spécificité humaine et animale,
- ainsi que 22 laboratoires utilisant un réactif donnant un résultat pour la spécificité animale et un résultat pour la spécificité humaine (6 avec des réactifs d'immunodot et 16 avec des réactifs d'immunoenzymologie ou de cytométrie en flux).

Les deux échantillons 16G6 et 16G7 étaient « positif » pour la recherche de facteurs rhumatoïdes.

Sur l'échantillon 16G6, positif faible (médiane = 22 UI/mL), des résultats faussement « négatif » ont été rendus avec plusieurs techniques et réactifs, d'une part avec certains réactifs de Turbidimétrie/néphélémétrie pour lesquels les résultats étaient proches du seuil, et d'autre part avec les techniques d'Hémagglutination et d'Immunodot avec lesquelles plusieurs réactifs rendent des résultats majoritairement « négatif ».

Quant à l'échantillon 16G7, positif plus élevé (médiane = 97 UI/mL), les résultats qualitatifs sont beaucoup plus homogènes, quasi exclusivement « positif » avec l'ensemble des techniques d'Agglutination au latex, d'Immunodot, d'Immunoenzymologie, de Turbidimétrie/néphélémétrie et de Cytométrie en flux. Cependant certains réactifs d'Hémagglutination, notamment le réactif de dépistage Biomérieux Waaler Rose Slide test, ont donné lieu à des résultats faussement « négatif ».

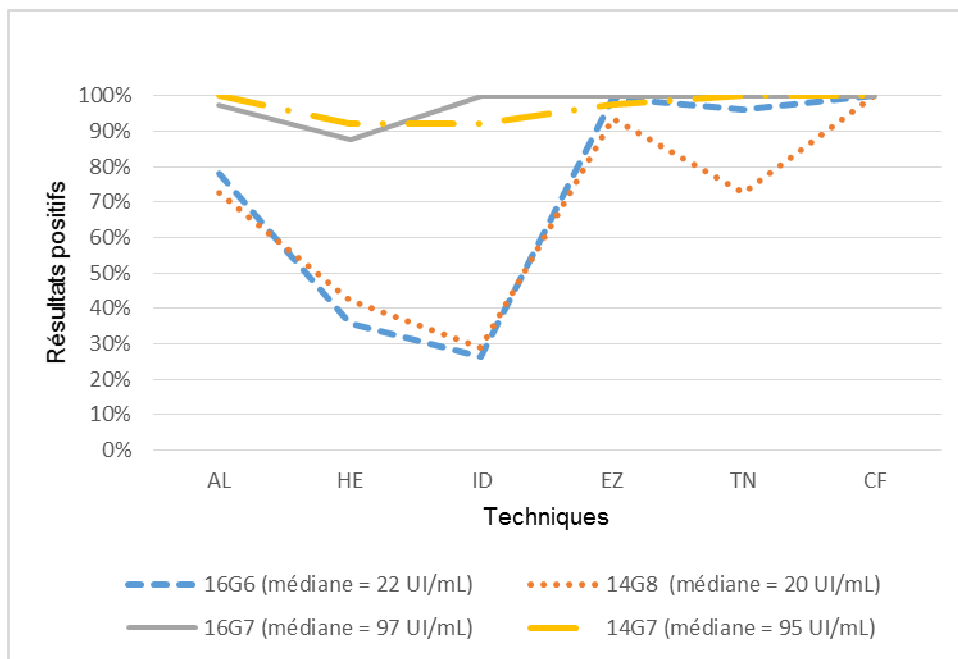
Avec les réactifs d'Immunoenzymologie et de Turbidimétrie/néphélémétrie, les moyennes des résultats quantitatifs pour 16G6 vont de 12 à 127 UI/mL et pour 16G7 de 69 à 244 UI/mL. Les réactifs de Turbidimétrie/néphélémétrie présentent une dispersion intra-réactif très modérée (CV très majoritairement < 10%) alors que les réactifs d'Immunoenzymologie montrent des CV plus proches de 15%.

Quant aux résultats des réactifs d'Agglutination au latex et d'Hémagglutination, les médianes vont de 8 à 120 UI/mL pour 16G6 et de 24 à 160 UI/mL pour 16G7.

La précédente opération portant sur les facteurs rhumatoïdes a eu lieu en 2014 (14ATI1). Alors que les échantillons de 2016 sont différents de ceux de 2014, les échantillons 14G8 et 16G6 montrent des médianes proches (respectivement 20 et 22 UI/mL), de même pour 14G7 et 16G7 (médianes respectivement 95 et 97 UI/mL).

La figure 5 montre les pourcentages de résultats « positif » en fonction des techniques utilisées sur les échantillons 14G7, 14G8, 16G6 et 16G7. Comparés aux résultats de l'opération 14ATI1, les résultats de 16ATI1 confirment un meilleur pourcentage de résultats qualitatifs « positif » sur des échantillons positifs faibles avec les techniques d'Agglutination au latex, d'Immunoenzymologie, de Turbidimétrie/néphélémétrie et de Cytométrie en flux qu'avec les techniques d'Hémagglutination et d'Immunodot.

figure 5 : Facteurs rhumatoïdes : nombre de résultats « positif » en % en fonction des techniques : Agglutination au latex (AL), Hémagglutination (HE), Immunodot (ID), Immunoenzymologie (EZ), Turbidimétrie/néphélométrie (TN) et cytométrie en flux (CF) en 2014 et 2016.



2 – Recherche d’anticorps anti-peptides cycliques citrullinés (anti-CCP)

Le formulaire de réponse sur internet permettait de rendre les résultats qualitatifs et quantitatifs (en U/mL). Le réactif et son seuil de positivité devaient être renseignés.

2 – 1 – Techniques et réactifs

L’ensemble des réactifs utilisés est détaillé dans le tableau VIII.

tableau VIII – réactifs utilisés pour la recherche d’anticorps anti-peptides cycliques citrullinés

Réactif	Nb laboratoires
Immunodot	17
ALL.DIAG CCPoint	12
EURO DIAGNOSTICA CCPoint	5
Immunoenzymologie	172
EUROIMMUN/Bioadvance ELISA anti-CCP (IgG) 2ème génération	11
BIORAD Kallestad anti CCP II	3
DIASORIN Etimax Anti-CCP	1
EURO DIAGNOSTICA CCPlus Immunoscan	2
INGEN Aeskulisa CCP	3
INOVA QUANTA Lite CCP 3 IgG	9
INOVA QUANTA Lite CCP 3.1 IgG/IgA	1
ORGENTEC Anti-CCP hs	11
ORGENTEC Anti-MCV	1
ORGENTEC Anti-MCV (Alegria)	7

PHADIA/ THERMOFISCHER CCP ELIA	119
THERADIAG Chorus Anti-CCP	4
Chimiluminescence	127
ABBOTT Architect Anti-CCP	54
IDS iSYS ZENIT RA CCP	7
INOVA QUANTA Flash CCP 3	6
MENARINI Zenit RA CCP	3
ROCHE Elecsys/Cobas Anti-CCP	47
SIEMENS Immulite Anti-CCP	16
Cytométrie en flux	19
BIORAD BioPlex 2200 anti-CCP	16
THERADIAG FIDIS Anti-CCP	3
Autres	1
Total	342

L'ensemble des laboratoires participants est de 342.

Des résultats qualitatifs ont été rendus par 327 laboratoires et des résultats quantitatifs par 330 laboratoires. L'ensemble résultats qualitatifs et quantitatifs a été rendu par 315 laboratoires sur au moins un des deux échantillons. Effectivement, 15 laboratoires ayant rendu un résultat quantitatif ont omis de rendre le résultat qualitatif (négatif ou positif) correspondant.

Les résultats sont présentés successivement pour chaque échantillon.

2- 2 – Echantillon 16G6 - Résultats qualitatifs

Pour l'échantillon 16G6 rendu majoritairement négatif, les résultats des 327 laboratoires ayant rendu une réponse qualitative figurent dans le tableau IX en fonction des réactifs utilisés.

tableau IX - anticorps anti-CCP - Echantillon 16G6 - résultats qualitatifs rendus par les participants

Réactif	16G6	
	Négatif	Positif
Immunodot	17 (100 %)	
ALL.DIAG CCPpoint	12	
EURO DIAGNOSTICA CCPpoint	5	
Immunoenzymologie	161 (97,0 %)	5 (3,0 %)
EUROIMMUN/Bioadvance ELISA anti-CCP (IgG) 2ème génération	9	2
BIORAD Kallestad anti CCP II	3	
DIASORIN Etimax Anti-CCP	1	
EURO DIAGNOSTICA CCPlus Immunoscan	2	
INGEN Aeskulisa CCP	3	
INOVA QUANTA Lite CCP 3 IgG	9	
INOVA QUANTA Lite CCP 3.1 IgG/IgA	1	
ORGENTEC Anti-MCV		1
ORGENTEC Anti-MCV (Alegria)	6	1
ORGENTEC Anti-CCP hs	10	
PHADIA/ THERMOFISCHER CCP ELIA	115	1
THERADIAG Chorus Anti-CCP	2	
Chimiluminescence	126 (100 %)	
ABBOTT Architect Anti-CCP	53	
IDS iSYS ZENIT RA CCP	6	
INOVA QUANTA Flash CCP 3	6	
MENARINI Zenit RA CCP	3	

ROCHE Elecsys/Cobas Anti-CCP	43	
SIEMENS Immulite Anti-CCP	15	
Cytométrie en flux	18 (100 %)	
BIORAD BioPlex 2200 anti-CCP	15	
THERADIAG FIDIS Anti-CCP	3	
Autres	0	
Total	322 (98,5 %)	5

Pour l'échantillon 16G6 « négatif », 5 résultats ont été rendus « positif » avec des réactifs d'immunoenzymologie. Deux ont été obtenus avec un réactif Euroimmun ELISA (2/11), avec pour l'un des deux une erreur d'interprétation, le résultat quantitatif étant inférieur au seuil rendu, et un avec Phadia / Thermofisher ELIA (1/116). Deux autres ont été obtenus avec Orgentec Anti-MCV - Alegria (1/7) et Orgentec Anti-MCV (1/1). L'échantillon 16G6 adressé à Orgentec pour test a été confirmé « négatif » avec un résultat nettement inférieur au seuil.

2- 3 – Echantillon 16G7 - Résultats qualitatifs et quantitatifs

Pour l'échantillon 16G7 rendu unanimement positif, les résultats figurent dans le tableau X, avec moyenne, écart-type et CV pour les réactifs pour lesquels il était possible de déterminer ces paramètres. En effet de nombreux résultats sont supérieurs à la limite supérieure de quantification du domaine analytique et les résultats quantitatifs ont été le plus souvent rendus sous la forme « >x ».

tableau X – anticorps anti-CCP - Echantillon 16G7 - résultats qualitatifs et quantitatifs rendus par les participants*

Réactif	Résultats qualitatifs	Résultats quantitatifs				Résultats quantitatifs supérieurs à la limite supérieure de quantification	
	16G7						
	Positif	n	Moyenne (U/mL)	ET (U/mL)	CV (%)	N ⁽¹⁾	« >x » ⁽²⁾
Immunodot	17						
ALL.DIAG CCPoint	12	**				**	
EURO DIAGNOSTICA CCPoint	5	**				**	
Immunoenzymologie	166						
EUROIMMUN/Bioadvance ELISA anti-CCP (IgG) 2ème généré.	11					10 (a)	>200
BIORAD Kallestad anti CCP II	3					3	>300
DIASORIN Etimax Anti-CCP	1						
EURO DIAGNOSTICA CCPlus Immunoscan	2						
INGEN Aeskulisa CCP	3					2	
INOVA QUANTA Lite CCP 3 IgG	9					8	>250
INOVA QUANTA Lite CCP 3.1 IgG/IgA	1						
ORGENTEC Anti-MCV	1						
ORGENTEC Anti-MCV (Alegria)	7					6	>1000
ORGENTEC Anti-CCP hs	10	11	69,5	32,2	46,3		
PHADIA/ THERMOFISCHER CCP ELIA	116					114 (b)	>340
THERADIAG Chorus Anti-CCP	2					4	>300
Chimiluminescence	126						
ABBOTT Architect Anti-CCP	53	***				33 (c)	>1200
IDS iSYS ZENIT RA CCP	6					5	>320
INOVA QUANTA Flash CCP 3	6					4	>2777

MENARINI Zenit RA CCP	3					3	>320
ROCHE Elecsys/Cobas Anti-CCP	43	46	240,6	42,5	17,7		
SIEMENS Immulite Anti-CCP	15					14 (d)	>200
Cytométrie en flux	18						
BIORAD BioPlex 2200 anti-CCP	15					13	>300
THERADIAG FIDIS Anti-CCP	3						
Autres	0						
Total	327						

* Pour les 330 résultats de l'échantillon 16G7, à titre d'information : moyenne générale = 661,0 U/mL ; médiane = 270 U/mL

** réactif de dépistage

(1) N : nombre de résultats rendus supérieurs à la limite de quantification

(2) x : limite de quantification rendue majoritairement par les laboratoires
nombre de laboratoires ayant rendu une limite de quantification différente : (a) 4 ; (b) 4 ; (c) 7 ; (d) 1

*** Avec le réactif Abbott Architect Anti-CCP, 54 résultats dont 21 valeurs (médiane=2187 U/mL) et 33 résultats « >x »

La totalité des résultats qualitatifs est « positif ».

Selon les réactifs utilisés, les résultats quantitatifs ont été rendus soit dans les limites de quantification (réactifs Orgentec Anti-CCP hs et Roche Elecsys/Cobas Anti-CCP), soit supérieurs à la limite supérieure de quantification pour la plupart des autres réactifs. Pour le réactif Abbott Architect Anti-CCP, 39 % des résultats ont été rendus dans des limites de quantification et 61 %, supérieurs à la limite de quantification.

On note une disparité de résultats selon les réactifs avec des moyennes à 69,5 et 240,6 U/mL et des résultats pour certains « > 1000 U/mL ».

2- 4 – Commentaires

Les résultats des anticorps anti-CCP sont très satisfaisants sur l'échantillon 16G7 avec 100 % de résultats « positif » et également sur l'échantillon 16G6 avec 98,5 % de résultats « négatif ».

Sur l'échantillon 16G6, deux laboratoires ont rendu des résultats faussement « positif » : un résultat « positif » avec chacun des réactifs Orgentec Anti-MCV - Alegria et Orgentec Anti-MCV. Mais la proportion de résultats « négatif » avec les réactifs Orgentec est ici en 2016 (6 / 8 résultats) bien meilleure que lors de l'opération de 2014 (2 / 9 résultats) avec l'échantillon 14G8 (négatif).

Par ailleurs, sur l'échantillon 16G7, les 18 résultats qualitatifs rendus avec des réactifs Orgentec sont « positif » conformément à la réponse attendue. On ne retrouve donc pas, avec ces réactifs utilisant comme antigène la vimentine citrullinée mutée, la discordance observée en 2014 sur l'échantillon 14G7 où 24 / 25 des résultats avaient été rendus faussement « négatif », sans que l'on ait pu trouver d'explication.

A noter qu'avec le réactif Orgentec Anti-CCP hs, un laboratoire n'a pas rendu de résultat qualitatif mais son résultat quantitatif correspond bien à un résultat qualitatif « positif ».

Les réactifs pour lesquels la moyenne a été calculée sont Orgentec Anti-CCP hs (m = 69,5 U/mL) et Roche Elecsys/Cobas Anti-CCP (m = 240,6 U/mL). La dispersion est plus élevée pour le premier réactif (CV respectivement 46,3 % et 17,7 %).

Comparés à l'échantillon 14G7 de l'opération 14ATI1, les résultats quantitatifs de l'échantillon 16G7 sont plus élevés, avec plusieurs réactifs pour lesquels la moyenne avait été calculée en 2014 (allant de 35,5 à 289,2 U/mL) alors qu'en 2016 les résultats ont été rendus « >x » ; excepté pour le réactif Roche Elecsys/Cobas pour lequel la moyenne est quasi identique (249 versus 240,6 U/mL).

Bibliographie

(1) GEAI l'info (Groupe d'Etude de l'Auto-Immunité) n°9 – janvier 2009

<http://www.geai-lesautoanticorps.fr/34-Revue-GEAI-L-Info>

site consulté le 09/01/2017

Conclusion

Pour la recherche des facteurs rhumatoïdes, l'opération 16AT11 a confirmé sur un échantillon positif de niveau faible comme en 2014, pour la plupart des réactifs d'Hémagglutination et d'Immunodot, et dans une moindre mesure d'Agglutination sur latex, la fréquence de résultats faussement négatifs plus élevée qu'avec les réactifs d'Immunoenzymologie et de Turbidimétrie/néphélométrie. Avec un échantillon positif de niveau plus élevé, les résultats sont satisfaisants avec l'ensemble des techniques, excepté avec certains réactifs d'Hémagglutination.

Pour la recherche d'anticorps anti-CCP, les résultats qualitatifs sont satisfaisants tant avec l'échantillon négatif qu'avec l'échantillon positif et plus homogènes qu'en 2014.