

# Annales du Contrôle National de Qualité des Analyses de Biologie Médicale

Anticorps anti-nucléaires

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

Expédition : 29/10/03

Clôture : 24/11/03

Edition des compte-rendus individuels : 18/12/03

Paramètres contrôlés : **03G7 – Anticorps anti-nucléaires**  
**03G8 – Anticorps anti-nucléaires**

Nombre de laboratoires concernés\* : 705

Nombre de laboratoires participants\*\* : 670

\* 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

La première opération anticorps anti-nucléaires a eu lieu en 1998. Par la suite, nous avons continué à contrôler cette analyse (dépistage et identification) en envoyant un échantillon chaque année.

En 2003, pour l'opération 03ATI2, deux échantillons ont été adressés aux laboratoires. Nous avons analysé 632 réponses. Sur le premier échantillon (échantillon 03G7), le pourcentage de bonne interprétation (80%) concernant l'aspect « centromère » de la fluorescence s'est révélé nettement inférieur à celui des années précédentes (93 à 100%) où des aspects de type « homogène et/ou moucheté » avaient été proposés. Sur le second échantillon 03G8 (négatif), les résultats ont confirmé la part subjective de la lecture de l'intensité de la fluorescence en microscopie. Nous avons, en effet, relevé 5,7% de résultats faussement positifs qui n'étaient reliés ni à un réactif particulier ni à de mauvaises procédures (grossissement, dilution de dépistage).

En ce qui concerne la méthodologie, il y a eu, au cours de ces 6 dernières années, une amélioration de la « qualité » des procédures analytiques. Le nombre d'utilisateurs d'un grossissement de l'objectif adapté au dépistage sur cellule HEp 2 (x40-50) s'est amélioré (augmentation de 4% depuis 1998). Le nombre d'utilisateurs d'une dilution de dépistage adéquate (1:80) est passé de 62,7% en 2000 à 79,7% en 2003.

### Echantillon 03G7

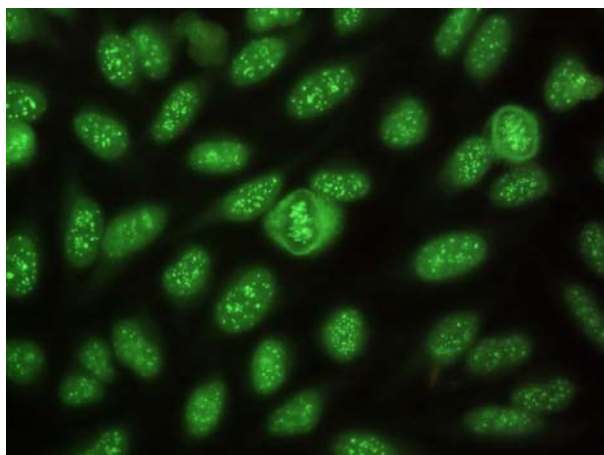
## Anticorps anti-nucléaires

### Définition de l'échantillon

**Résultats des experts** : anticorps anti-nucléaires à titre élevé (> 1:320), donnant une fluorescence de type centromère (photo 1); spécificité anti-CENP-B (Centromere-associated protein).

Dr C. André (Créteil), Dr J. Arvieux (Brest), Dr D. Bengoufa (Paris), Dr Dr J.M. Gombert (Poitiers), Dr C. Johanet (Paris), Dr F. Oksman (Toulouse), Dr B.N. Pham (Clichy)

photo 1 - aspect anti-centromère observé sur cellules HEp-2



## Résultats des participants

### 1 – Dépistage : Immunofluorescence indirecte

#### 1.1 - Matériel et méthode

Le grossissement de l'objectif utilisé a été précisé par 616 laboratoires. Les grossissements 40 ou 50 sont utilisés dans 95% des cas (contre 91,6% en 1998). On note 17 laboratoires utilisant un faible grossissement (10 ou 25) et, à l'inverse, 9 laboratoires utilisant un fort grossissement (100).

La dilution de dépistage utilisée est 1:80 ou 1:100 dans 79,7% des cas (contre 62,7% en 2000), et 1:40 ou 1:50 dans 17,1% des cas (tableau I). Cependant, 1,3% des laboratoires utilisent encore une dilution inférieure ou égale à 1:20 et 1,5% des laboratoires utilisent une dilution de dépistage à 1:160.

L'origine des réactifs (cellules HEp-2) est essentiellement commerciale : 23 réactifs différents ont été cités (tableau II). Seulement 6 laboratoires utilisent des réactifs « maison ».

tableau I – dilution de dépistage

| Dilution de dépistage | Nombre de laboratoires |
|-----------------------|------------------------|
| 1 :10                 | 1                      |
| 1 :16                 | 1                      |
| 1 :20                 | 6                      |
| 1 :40                 | 96                     |
| 1 :50                 | 7                      |
| 1 :60                 | 1                      |
| <b>1 :80</b>          | <b>446</b>             |
| 1 :100                | 35                     |
| 1 :160                | 9                      |
| > 1 :160              | 2                      |

**tableau II** – origine des cellules HEp-2

| Cellules HEp-2  | Nombre de laboratoires* |
|---|-------------------------|
| BIO-RAD Quantafluor Lame HEp2 (Y 1118 0)                            | 173                     |
| BIOADVANCE IFI : HEp2 anti ANA (R 5698 2)                           | 143                     |
| BIOMEDICAL DIAGNOSTICS Coffret HEp 2000 (ANA-Ro) (N 3521 2)         | 77                      |
| BIOADVANCE IF-HEp2 / Foie de primate (R 5913 2)                     | 40                      |
| BIOMEDICAL DIAGNOSTICS Coffret Hep 2000 (N 3273 2)                  | 39                      |
| BIOMEDICAL DIAGNOSTICS HEp 2000 (lames et conjugué) (N 3274 2)      | 38                      |
| CAP BIO AAN (HEp2)/AAN (HEp2)L (P42022,P42032)                      | 19                      |
| MENARINI DIAGNOSTICS Nova- lite ANA HEp2 (N 2700 2)                 | 19                      |
| MERIDIAN ANA HEp2 IF Test System (K 4515 0, P 4697 2)               | 14                      |
| THE BINDING SITE Kit ANA cellules HEp2 (P 4644 2)                   | 11                      |
| CAP BIO Anticorps antinucléaires (substrat cellules HEp2)(F 0356 1) | 7                       |
| INSTITUT J.BOY HEp2.ANA (T 8818 2)                                  | 7                       |
| MAST D. Anticorps antinucléaires Cellules HEp2 (P 3814 2)           | 7                       |
| SERVIBIO Fluoro HEPANA (CE)   | 5                       |

\* Seuls les effectifs supérieurs ou égaux à 5 sont cités.

## 1.2 - Résultats :

Nous avons recensé 5 réponses négatives pour 623 réponses. Le taux de bonnes réponses est donc élevé : 99,2%. Ces 5 mauvais résultats ne sont pas attribuables à un réactif donné.

En ce qui concerne l'aspect de la fluorescence, 79,9% des participants ont observé un aspect anti-centromère (tableau III). Parmi eux, 4 laboratoires ont précisé que cet aspect était accompagné d'un aspect anti-membrane nucléaire. Un aspect moucheté a été rendu par 18 % des participants.

Concernant le titre, 72,6% des laboratoires ont trouvé un titre supérieur ou égal à 640.

**tableau III** – aspect de la fluorescence

| Aspect de la fluorescence | Nombre de laboratoires |
|---------------------------|------------------------|
| <b>Centromère</b>         | <b>489</b>             |
| Moucheté                  | 110                    |
| Homogène                  | 9                      |
| Nucléolaire               | 2                      |
| Dots nucléaires           | 2                      |

## 2 – Anticorps anti-ADN natif

L'échantillon 03G7 ne contenait pas d'anticorps anti-ADN natif. Au vu de l'aspect de fluorescence centromérique, il n'était pas nécessaire pour conclure dans le cadre de ce contrôle de qualité de réaliser une recherche de façon systématique des anticorps anti-ADN natif ni des anticorps anti-antigènes nucléaires solubles.

447 laboratoires (71,6%) ont recherché la présence d'anticorps anti-ADN natif.

La répartition des différentes techniques utilisées est la suivante : immunofluorescence utilisée dans 50,7% des cas, immunoenzymologie dans 31% des cas, immunodot dans 14,8% des cas, agglutination de particules de latex dans 2,3% des cas et enfin, test de Farr dans 1,1% des cas.

Sur ces réponses qualitatives, 18 résultats sont positifs (4%). Ces mauvais résultats ont été obtenus avec une technique d'immunofluorescence dans 13 cas et une technique d'immunoenzymologie dans 4 cas. Les titres obtenus dans ces cas positifs vont de 1:10 à 1:80.

### 3 – Anticorps anti-antigènes nucléaires solubles

L'échantillon 03G7 ne contenait pas d'anticorps anti-antigènes nucléaires solubles. Au vu de l'aspect de fluorescence centromérique, il n'était pas nécessaire pour conclure dans le cadre de ce contrôle de qualité de réaliser une recherche de façon systématique des anticorps anti-ADN natif ni des anticorps anti-antigènes nucléaires solubles.

368 laboratoires (58,2%) ont recherché la présence d'anticorps anti-antigènes nucléaires solubles. Certains réactifs destinés à l'identification d'anticorps anti-antigènes nucléaires solubles permettent également l'identification d'anticorps anti-centromère. La majorité des laboratoires (322) ont utilisé un seul réactif, 46 participants en ont employé deux. La technique la plus utilisée est l'immunodot (51,6% des réactifs cités), puis l'immunoenzymologie (42%) et enfin l'Ouchterlony (5,1%). L'électrosynérèse n'est utilisée que par 4 laboratoires et l'agglutination avec des particules de latex par un seul participant.

Nous avons recueilli 262 résultats négatifs dont deux pour la spécificité anti-centromère (mais l'un de ces deux résultats correspondrait à un laboratoire ayant inversé les échantillons).

Nous avons recueilli 225 résultats positifs dont :

- 182 résultats positifs pour la spécificité anti-centromère
- 37 résultats positifs en anticorps anti-antigènes nucléaires solubles sans spécificité précisée
- 2 résultats positifs pour la spécificité anti-RNP
- 1 résultat positif pour la spécificité anti-SCL 70
- 1 résultat positif pour la spécificité anti-histone
- 1 résultat positif pour la spécificité anti-PCNA
- 1 résultat positif pour la spécificité anti-ribosomes.

### Commentaires

Concernant les procédures analytiques, on constate une nette amélioration au cours des 6 opérations de contrôle. Cependant, 4,2% des laboratoires utilisent encore un trop faible (x10 ou x25) ou trop fort grossissement (x100 au microscope). Concernant la dilution de dépistage il reste encore 2,8% des participants qui emploient une dilution inadaptée (inférieure ou égale à 1 :20, égale à 1 :160).

L'aspect de fluorescence du sérum proposé était typique de l'aspect « centromère » : aspect moucheté particulier fait d'une quarantaine de grains réguliers dans les noyaux des cellules en interphase, avec alignement des «grains mouchetés» au niveau de la plaque équatoriale dans les cellules en métaphase. L'aspect «centromère» doit être différencié de l'aspect «moucheté», vu la valeur diagnostique des anticorps anti-centromère, marqueurs du CREST syndrome (CREST pour Calcinose sous-cutanée, syndrome de Raynaud, atteinte oEsophagienne, Sclérodactylie et Télangiectasies). Le taux de bonnes réponses obtenu avec l'aspect anti-centromère est nettement inférieur à ceux obtenus lors des précédentes opérations avec d'autres aspects de fluorescence. Les aspects « homogène » et « moucheté » proposés alors avaient été observés par les participants dans 93 à 100% des cas selon les opérations.

Concernant les anticorps anti-ADN natif, vu leur valeur diagnostique (marqueurs du lupus systémique lorsqu'ils existent à titre élevé), il n'est pas acceptable d'avoir 4% de résultats faussement positifs.

Si la recherche d'anticorps anti-antigènes nucléaires solubles est discutable sur un échantillon contenant des anticorps anti-centromère en test de dépistage, l'analyse des résultats obtenus par les participants est cependant instructive. En effet, on note 16,5% de réponses positives sans spécificité précisée et 2,6% de réponses positives donnant des spécificités variées. Or, cet échantillon ne contenait pas d'anticorps anti-antigènes nucléaires solubles. La possibilité de rechercher des anticorps anti-antigènes nucléaires solubles et d'autres auto-anticorps de spécificités différentes sur un même support peut amener une confusion dans l'interprétation des résultats. L'ambiguïté réside peut-être dans une dénomination trop générale des réactifs proposés. Aussi aboutit-on à un excès de résultats, en dehors de ceux recherchés initialement, résultats dont l'intérêt et la pertinence doivent être évalués avant d'être éventuellement rendus.

## Echantillon 03G8

# Anticorps anti-nucléaires

### Définition des échantillons

**Résultats unanimes des experts** : absence d'anticorps anti-nucléaires.

Dr C. André (Créteil), Dr J. Arvieux (Brest), Dr D. Bengoufa (Paris), Dr Dr J.M. Gombert (Poitiers), Dr C. Johanet (Paris), Dr F. Oksman (Toulouse), Dr B.N. Pham (Clichy)

### Résultats des participants

#### 1 – Dépistage : Immunofluorescence indirecte

##### 1.1 – Matériel et méthode

voir échantillon 03G7

##### 1.2 - Résultats :

Nous avons recensé 33 réponses positives pour 585 réponses négatives, soit 5,7% de mauvaises réponses. Parmi ces 33 réponses, 32 sont accompagnées d'un titre. Trois titres sont égaux à 1:40, 19 sont à 1:80 et les autres sont supérieurs à 1:80. L'aspect le plus cité parmi ces faux positifs est l'aspect moucheté. Les réponses positives ne sont pas liées à un réactif particulier.

#### 2 – Anticorps anti-ADN natif

Les 370 réponses recueillies sont négatives soit 100% de bonnes réponses.

#### 3 – Anticorps anti-antigènes nucléaires solubles

Nous avons recueilli 382 résultats dont trois résultats positifs. Ces trois résultats précisait la spécificité anti-centromère.

## Commentaires généraux

Concernant les résultats du dépistage des anticorps anti-nucléaires sur cellules HEp 2, rappelons que le seuil de positivité d'une technique est un paramètre critique à déterminer. En immunofluorescence indirecte, ce seuil dépend de la dilution de dépistage du sérum à tester (1:80 pour les cellules HEp 2), de la qualité du microscope (lampe, objectif, etc...) et de la subjectivité de la lecture.