

**INFLUENCE DE  
LA CONSERVATION A 4°C  
ET DE LA CONGELATION A -40°C  
SUR DIVERS DOSAGES D'AUTO-Ac**

Janvier 2015

## Historique - Méthodes

---

- ❑ Dosage à J0 et après des temps variables sur des séries différentes d'aliquotes conservées à 4°C ou -40°C (-80°C).
- ❑ Origine de 1 à 3 laboratoires par type d'Ac
- ❑ Techniques site-dépendant

### Tests statistiques

- ❑ Évaluent la dépendance de deux séries appariées de sérums, fonction de la durée de conservation ou de congélation,
  - Tests des rangs signés de Wilcoxon ou Test de Student
- ❑ Significatif si  $p < 0,05$

# Résultats, influence de la conservation à 4°C

Ac dosés Ac anti-	Dosage après différentes durées à 4°C				
	J7	J7	J14	J21	J60
ADNn			NS (n=26)	NS (n=6)	NS (n=19)
Ag nucléaires solubles		NS (n=28)	NS (n=24)		
Béta2-GP1	IgG				NS (n=11)
		IgM		NS (n=6)	NS (n=5)
Thyroperoxydase					NS (n=14)
Thyroglobuline					NS (n=15)
Transglutaminase					NS (n=14)

# Résultats, influence de la congélation à -40°C (-80°C)

Ac dosés Ac anti-	Dosage après différentes durées à -40°C					
	J21	J30	J90	J120	1an	2-3 ans
ADNn		NS (n=13)			NS (n=19)	NS (n=92)
Ag nucléaires solubles		NS (n=25)				NS (n=10)
Béta2-GP1	IgG	NS (n=11)			p<0,05 (n=10)	P<0,01 (n=15)
	IgM	NS (n=10)			NS (n=6)	
Cardiolipide	IgG				NS (p=5)	P<0,01 (n=9)
	IgM				NS (p=5)	P<0,01 (n=10)
Thyroperoxydase	NS (n=14)					P<<<0,0001 (n=22)
Thyroglobuline	NS (n=15)					P<0,05 (n=17) <sup>***</sup>
Transglutaminase	NS (n=14)					

\*\*\* Résultats discordant selon centre p=0,57 (n=9) et p=0,001 (n=8)

# Résultats, influence de la conservation à -40°C (-80°C)

Ac dosés Ac anti-	Dosage après différentes durées à -40°C					
	J21	J30	J90	J120	1an	2-3 ans
ARN polymérase						NS (n=20)
GP210						NS (n=20)
SP100						NS (n=20)
CCP						NS (n=20)

# Discussion

- ❑ Interprétation en fonction du CV (15-20%) de la technique, lots différents, Ag différents?

Mais certains résultats montrent des différences très significatives

- ❑ Les statistiques avec résultats significatifs émanent de petites séries ( $n < 20$ ), sauf TPO. Une différence de valeur très importante sur un seul sérum peut avoir un retentissement statistique
- ❑ Certaines techniques congélation-dépendante? Même fournisseur, mais après deux ans, exactement même Ag, mêmes tampons?
- ❑ Problèmes techniques soulevés par l'anti-TPO, résultats discordant selon le centre
- ❑ Effet différentiel de la congélation sur IgG et IgM?
- ❑ Biais statistique?

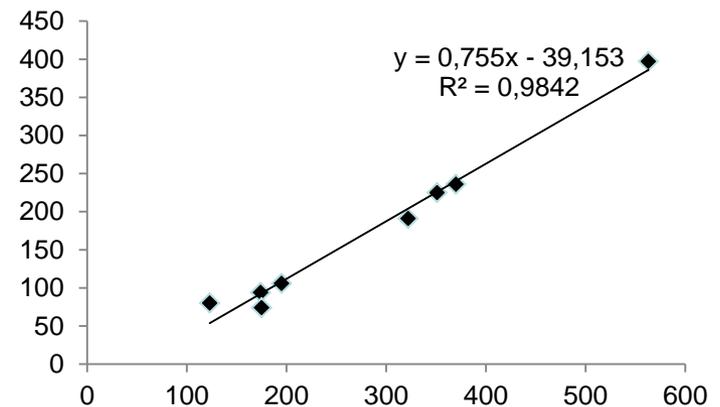
# Discussion

- ❑ Le plus souvent, on va dans le sens d'une perte d'activité avec la congélation, mais parfois augmentation du signal

⇒ Un résultat positifs restera interprété comme positif

Ex: anti-TG (Pitié)

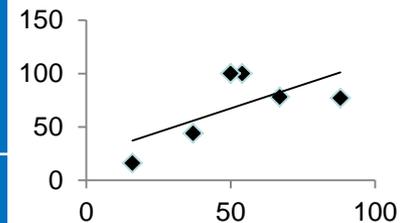
2012	2014
351	225
322	191
174	94
370	236
563	397
195	106
123	80
175	74



- ❑ Cette dérive du signal a été appréciée par l'étude du coeff de corrélation de Spearman

# Etude de la corrélation

Ac dosés	Ac anti-	Dosage après 2-3 ans à -40°C
ADNn (n=92)		$rs = 0,93 (p < 10^{-40})$
Ag nucléaires solubles (n=10)		$rs = 0,95$
Béta2-GP1 (*)	IgG (n=12)	$rs = 0,81 (p < 3 \cdot 10^{-4})$
	IgM (n=6)	$rs = 0,46 (p = 0,35)$ →
Cardiolipide (*)	IgG (n=9)	$rs = 0,83 (p < 0,01)$
	IgM (n=10)	$rs = 0,96 (p < 10^{-5})$
Thyroperoxydase (*) (n=22)		$rs = 0,92 (p < 10^{-9})$
Thyroglobuline (*) (n=17)		$rs = 0,84 (p < 10^{-5})$



Les résultats avec une différences importantes (\*) entre les couples appariés sont "dans un même sens" et il existe une corrélation très forte entre les résultats à J0 et après congélation (un sérum positif reste positif), sauf pour les IgM anti-béta2-GP1, mais petite série.

# Conclusion

---

- ❑ Pas d'effet de la conservation à 4°C sur les Ac testés
  
- ❑ Tester l'hypothèse "un signal en ELISA à J0 et après 2-3 ans de congélation" montre, avec certains Ac, une modification significative de la valeur quantitative de ce signal.

Pourquoi?

- ❑ Etude des corrélations, existe-t-il un impact sur les résultats des sérums "au seuil"? (étude sur séries appropriées).