



Centre Toulousain
pour le Contrôle de qualité
en Biologie clinique

Compte rendu 132 Auto-anticorps rares

Association déclarée à la Préfecture de la Haute-Garonne le 30 Octobre 1973
et enregistrée sous le W313002633
CTCB - 33 route de Bayonne - 31300 TOULOUSE
☎ : 05 34 51 49 80 – Fax : 01 57 67 25 90
Email : secretariat.ctcb@ctcb.com – site Internet : www.ctcb.com
Siret : 428 789 853 000 28 – APE : 8559A

Statut du document : Définitif

1 - PRESENTATION DU PROGRAMME D'INTERCOMPARAISON

Expert du programme :

L'expert devra être choisi par les membres du GEAI pour le programme 2014-2015.

Mme Fortenfant (Laboratoire d'Immunologie, fortenfant.f@chu-toulouse.fr), expert au CTCB pour l'auto-immunité courante, a supervisé ce rapport

Coordonnateur du programme : Stéphanie Albarède, CTCB, s.albarede@ctcb.com

Un large panel vous a été proposé en collaboration avec GEAI. Les membres du GEAI fournissant les échantillons et leur expertise et le CTCB son expérience et son indépendance pour le traitement des données.

➤ **Fréquence de passage (pour chaque programme spécifique) :**

3 enquêtes par an, avec 1 échantillon par programme.

➤ **Présentation du programme :**

L'ensemble des échantillons est adressé en une seule fois par le CTCB. Les 10 programmes proposés se répartissent de la façon suivante :

- Programme PEAU
- Programme ENAR
- Programme FOIE
- Programme ASCA
- Programme SUR
- Programme GANG
- Programme NEUR
- Programme MAGS
- Programme MSTR
- Programme NUHI

2 - DETERMINATION DE LA NOTATION DU LABORATOIRE

Les notations ne seront mise en place que pour le programme 2014-2015. Afin que vous puissiez évaluer vos résultats nous vous informons que le système de notation qualitatif sera celui utilisé pour les programmes qual-immun (auto-immunité courante). Il repose sur l'échelle d'évaluation suivante :

- A = Réponse attendue
- B = Réponse acceptable
- C = Réponse à analyser par le laboratoire
- D = Réponse erronée

Le résultat attendu est la valeur assignée qualitative transmise par le fournisseur lorsque les résultats des participants sont cohérents en inter-réactifs. Des différences par groupe de pairs peuvent amener l'Expert à moduler cette valeur, le fournisseur ne pouvant pas tester tous les dispositifs médicaux de diagnostic in vitro (DMDIV) présents sur le marché. En effet, dans le domaine de l'auto-immunité, de nombreux facteurs dont la nature et la présentation de l'antigène, peuvent induire des discordances de résultats entre deux techniques voire deux réactifs d'une même technique.

Etant donné les faibles effectifs et/ou la dispersion des résultats, les données quantitatives ne seront pas évaluées.

3 - TRAITEMENT STATISTIQUE QUANTITATIF

Etant donné les faibles effectifs, seul le traitement statistique qualitatif est réalisé : effectif par type de réponses

4 - ANALYSE DES REPONSES ET COMMENTAIRES

Deux programmes ont posé problème :

- programme ASCA
- programme MSTR

Les réponses sont unanimes mais ne sont pas en accord avec la valeur assignée de l'expert qui a produit les échantillons. La question qui se pose en dehors de toute erreur de retranscription est « sommes-nous en présence d'un problème réactif dépendant ou d'un problème de conservation de l'échantillon ? ». Pour le programme 2014-2015, il sera demandé de fabriquer au moins un échantillon en plus pour faire des tests de stabilité.

Rédaction :
Dr S. ALBAREDE - s.albarede@ctcb.com
Pharmacien Biologiste

Autorisation du rapport d'essai d'aptitude par le Coordonnateur des programmes :
Dr S. ALBAREDE - s.albarede@ctcb.com
Pharmacien Biologiste



PS : Ces documents doivent être archivés selon les recommandations du GBEA (Arrêté du **26 novembre 1999**, paru au **JO du 11 décembre 1999**).

Pour tout renseignement :

COORDONNATEUR et BIOLOGISTE : Stéphanie ALBAREDE - s.albarede@ctcb.com
ADMINISTRATIF : Marie-Christine ONDERBEKE, Tél. : 05.34.51.49.80 - Fax : 01.57.67.25.90 - secretariat.ctcb@ctcb.com
ADMINISTRATIF et TRAITEMENT STATISTIQUE : Delphine GARIMBAY, Tél. : 05.34.51.49.81 - d.garimbay@ctcb.com
ASSURANCE QUALITE : Erick SANCHEZ, Tél. : 05.34.51.49.82 - e.sanchez@ctcb.com
INFORMATIQUE : Philippe GONZALVO - p.gonzalvo@ctcb.com

Information :

Les essais d'homogénéité et de stabilité se sont avérés conformes aux modalités décrites dans la procédure de contrôle. Les documents utilisés pour réaliser ce programme d'intercomparaison (préparation des objets d'essai, détermination des valeurs indicatives et assignées, traitement statistique, ...) sont disponibles sur demande auprès du CTCB. L'interprétation de ces résultats ne doit pas se faire isolément et doit être rapprochée de ceux obtenus lors des autres opérations de contrôle effectuées dans le cadre de l'évaluation interne et de l'évaluation externe du laboratoire.

I. Programme PEAU

6 laboratoires ont participé.

Clinique : femme née en 1921. Sérum adressé par la dermatologie sans renseignement clinique.

Valeur assignée : présence d'anticorps anti-peau

- IFI :
 - o Anti substance intercellulaire (desmosome) : négatif
 - o Anti-membrane basale dermo-épidermique : positif
 - Anti-IDE sur œsophage de rat : $\geq 1/2560$
 - Anti-IDE sur peau humaine : $\geq 1/320$
 - o Anti-membrane sur peau humaine clivée : positif ($\geq 1/40$) : marquage du versant épidermique
- ELISA :
 - o Anti-BP 180 : > 100 UA /ml
 - o Anti-BP 230 : > 100 UA /ml

A. Anti-membrane basale

Résultats des participants :

- 6 réponses positives
- 4 réponses quantitatives en IFI (> 800, > 800, > 1/1280, >3200)

B. Anti-BP180

Résultats des participants :

- 6 réponses qualitatives : 100% de réponses positives
- 6 réponses quantitatives en ELISA (tableau I)

REACTIF (ELISA)	Seuil	Résultat
BIOADVANCE	20	> 200 UR/mL
EUROIMMUN	20	>200 UR/mL
EUROIMMUN /BIOADVANCE	20	> 200 U/mL
EUROIMMUN	20	> 200 Unités
MBL	9	181 U/mL
MBL	20	index > 100

Tableau I. Titres obtenus par les participants en ELISA – Ac anti-BP180

C. Anti-BP230

Résultats des participants :

- 5 réponses qualitatives: 100% de réponses positives
- 5 réponses quantitatives en ELISA (tableau II).

REACTIF (ELISA)	Seuil	Résultat
BIOADVANCE	20	> 200 UR/mL
EUROIMMUN	20	413 Unités
EUROIMMUN	20	>200 UR/mL
EUROIMMUN /BIOADVANCE	20	> 200 U/mL
MBL Japon	20	index > 100

Tableau II. Titres obtenus par les participants en ELISA – Ac anti-BP230

D. Anti-DGS1

Résultats des participants :

- 4 réponses qualitatives : 100% de réponses négatives

E. Anti-DSG3

Résultats des participants :

- 4 réponses qualitatives: 100% de réponses négatives

F. Anti-SIC

Résultats des participants :

- 6 réponses qualitatives: 100% de réponses négatives

G. Conclusion

Les résultats sont excellents :

- On observe une unanimité des réponses en qualitatif,
- Les résultats quantitatifs sont cohérents.

II. Programme ENAR

12 participants.

Clinique : Sclérodémie systémique diagnostiquée en 1997. Actuellement, maladie stable sur le plan cutanée, avec fibrose pulmonaire débutante.

Valeur assignée :

- ANA IFI : positif = moucheté au 1/640
- Elisa :
 - o Anticorps anti-ARN polymérase III : positif à 78 U pour un seuil 20 U
 - o Négativité des anticorps suivants : Jo, PL7, PL12, SRP, Mi2, fibrillarine, Ku, PCNA, ribosome

A. Dépistage :

4 laboratoires ont rendu le résultat du dépistage : on observe 100% de réponses positives (tableau III)

Réactif (IFI)	Titre	Résultat qualitatif	Résultat quantitatif
BIORAD	1/800	Positif	Moucheté
Non précisé	1/320	Positif	Moucheté
BIOADVANCE/EUROIMMUN	1/640	Positif	Moucheté
BIORAD Kalestad Hep-2	1/1280	Positif	Noyau granulaire

Tableau III. Titres obtenus par les participants en IFI – Anticorps anti-nucléaires

B. Identification

L'identification des anticorps anti-nucléaires a été réalisée par 12 participants (tableau IV).

Anticorps	Nombre de laboratoires	Négatif	Positif
Anti-ARNP3	6		6
Anti-EJ	5	5	
Anti-fibrillarine	5*	4	
Anti-JO1	12	12	
Anti-Ku	10	10	
Anti MDA 5	3	3	
Anti Mi2	10	10	
Anti NOR90	1	1	
Anti- OJ	2	2	
Anti PCNA	11*	10	
Anti PL 12	12	12	
Anti PL 7	12	12	
Anti PM/SCL	8	8	
Anti SRP	10	9	1 (faiblement)
Anti Th/To	1	1	
Anti TIF-1	3	3	

Tableau IV. Identification des ENA

*Effectif participants supérieur au nombre de résultats en raison d'un volume d'échantillon insuffisant

C. Conclusion

Les résultats sont bons.

III. Programme FOIE

12 laboratoires ont participé.

Cas clinique : CBP compliquée d'ascite réfractaire. Transplantation hépatique en 2010. Bilan pour récurrence de la maladie après transplantation.

Valeur assignée :

- IFI :
 - o Anticorps anti-membrane nucléaire et nuclear dot au 1/640
 - o Présence d'anticorps anti-mitochondrie
- ELISA :
 - o Anti-gp210 positif à 159 U pour un seuil à 20 U
 - o Anti-sp100 positif à 94 U pour un seuil à 20 U
 - o Anti SLA négatif
 - o Anti LC négatif

A. Dépistage

5 laboratoires ont réalisé le dépistage en IFI sur triple substrat. On dénombre 4 réponses positives et une réponse ininterprétable. On peut considérer qu'il y a unanimité des réponses (fluorescence positive) au regard du commentaire accompagnant la réponse ininterprétable (tableau V).

4 laboratoires ont réalisé un dépistage d'anticorps anti-nucléaires sur Hep-2 et ont rendu un résultat qualitatif positif (tableau VI). Les quatre laboratoires signalent la présence de dots nucléaires dont deux laboratoires l'associent à un aspect cerclé.

IFI Triple substrat			
Titre	Résultat qualitatif	Aspect fluorescence	Commentaires
200	Positif	Dans le cytoplasme fluorescence de type anti-mitochondries	
	Ininterprétable	Ac anti membrane nucléaire	La fluorescence membranaire (gp120) est peut-être masquée par celle des anti-mitochondries.
>640	Positif	moucheté cerclé	Ac anti cytosol hépatique ininterprétable car présence Ac anti-mitochondrie
> 80	Positif	Cerclé (anti-enveloppe nucléaire)	
320	Positif	mitochondrie	

Tableau V. Dépistage sur triple substrat en IFI

IFI Hep-2			
Titre	Résultat qualitatif	Aspect fluorescence	Commentaires
640	Positif	Nucléaire à type de dots multinucléaires (6 à 14)	
	Positif	Ac de type nuclear dots	
160	Positif	Nucléaire de type "nuclear dot" avec présence d'Ac anti-sp100	Présence d'Ac anti-nucléaire d'aspect cerclé correspondant à un Ac anti-GP210
	Positif	Cerclé (anti-enveloppe nucléaire) et moucheté de type à grains nucléaires multiples	

Tableau VI. Dépistage sur Hep2 en IFI

B. Identification

Il y a unanimité des réponses que ce soit sur paramètre positif ou négatif (tableau VII)

	Effectif	Négatif	Positif
Anti SP100	11		11
Anti cytosol	12	12	
Anti GP210	11		11
Anti LKM1	7	7	
Anti Mitochondrie type 2	11		11
Anti-muscles lisses	5	5	
Anti SLA	10	10	

Tableau VII. Identification des anticorps anti-tissus.

C. Conclusion

Les résultats sont excellents.

IV. Programme ASCA

12 laboratoires ont participé, dont 11 pour l'isotype IgG et 11 pour l'isotype IgA.

Clinique : Diarrhée chronique chez une patiente de 51 ans

Valeur assignée : ASCA en IFI : IgA positif, IgG négati

A. Résultats

Les résultats sont unanimes : 100% de négatifs en IgG et IgA (tableau VIII).

Isotype	Méthode	Positif	Négatif	Non interprété
IgA	ELISA		7	
	IFI		4	
IgG	ELISA		7	
	IFI		4	

Tableau VIII. Résultats qualitatifs ASCA

B. Conclusion

Il y a discordance entre les résultats des participants et la valeur assignée de l'expert : l'hypothèse avancée est un problème de conservation. Pour le programme 2014-2015, il est demandé aux experts qui fournissent les échantillons d'adresser un échantillon en plus afin de faire un test de stabilité en fin de l'opération de contrôle concernée. Ceci permettra de conclure à une mauvaise conservation ou chercher une cause (Erreur de retranscription des résultats par l'expert ? Tests réalisés sur échantillon différent de ceux envoyés ?).

V. Programme SUR

9 laboratoires ont participé.

Clinique : Diabète insulino-dépendant chez un garçon de 4 ans.

Valeur assignée : Anticorps anti-surrénale négatif en IFI

A. Résultats

IFI sur surrénales : il y a unanimité des réponses sur cet échantillon négatif

B. Conclusion

Les résultats sont concordants avec la valeur assignée.

VI. Programme GANG

8 laboratoires ont participé.

Clinique : Patient âgé de 69 ans présentant une atteinte neurogène périphérique invalidante. Ce patient a pour antécédent un diabète de type II relativement mal équilibré.

Récemment, dans un contexte post-opératoire d'une chirurgie des coiffes des rotateurs, il développe une atteinte déficitaire proximale et distale sensitivomotrice du membre supérieur droit diagnostiquée plexulaire à l'EMG. Il y a un déficit sensitivomoteur du membre supérieur droit avec une atteinte des fléchisseurs des doigts et des interosseux, une atteinte proximale sur le circonflexe alors que biceps et triceps sont conservés. Aux membres inférieurs, il y a une amyotrophie du membre inférieur gauche, des releveurs des 2 côtés, l'absence d'atteinte proximale en moteur, un déficit sensitif bilatéral et relativement symétrique. Une polyneuropathie peut être en rapport avec le diabète. Il faut se poser la question de savoir si les atteintes radiculaires extrêmement sévères non améliorées par la chirurgie sont bien liées à une atteinte mécanique d'une hernie discale.

Valeur assignée : négatif en dépistage IgG + IgM (dots generics assays Eurobio)

A. Résultats

Tous les résultats sont négatifs quelle que soit la spécificité antigénique (tableau IX).

	Dépistage (IgG+IgM)		IgG		IgM	
	Positif	Négatif	Positif	Négatif	Positif	Négatif
Anti gangliosides		1				
Anti GD1a		7		1		1
Anti GD1b		7		1		1
Anti GD2		6		1		1
Anti GD3		7		1		1
Anti GM1		7		1		1
Anti GM2		7		1		1
Anti GM3		7		1		1
Anti GM4		7		1		1
Anti GQ1b		7		1		1
Anti GT1a		7		1		1
Anti GT1b		7		1		1
Anti sulfatide		7		1		1

Tableau IX. Résultats qualitatifs – anticorps anti-gangliosides

B. Conclusion

Les résultats sont excellents.

VII. Programme NEUR

6 laboratoires ont participé.

Clinique : non renseigné

Valeur assignée :

- anticorps anti- NMO négatif
- anticorps anti-neuronaux négatif
- présence d'anticorps anti-nucléaires

A. Résultats

En dépistage sur IFI, les 6 réponses se répartissent en :

- 4 réponses négatives
- 2 réponses ininterprétables en raison de la présence d'anticorps anti-nucléaires.

Le tableau X recense les réponses qualitatives en identification.

	Positif	Négatif
Anti amphysine		6
Anti -aquaporine 4 (NMO)		4
Anti CV2		6
Anti GAD		3
Anti Hu		6
Anti Ma1		3
Anti Ma2		6
Anti Ri		6
Anti SOX1		4
Anti Yo		6

Tableau X. Résultats qualitatifs anticorps anti-neurones

B. Conclusion

Les résultats sont concordants avec la valeur assignée.

VIII. Programme MAGS

7 laboratoires ont participé.

Clinique : Neuropathie avec atteinte sensitive distale + ataxie chez un patient ayant une maladie de Waldenström (IgM kappa monoclonale)

Valeur assignée : MAG positif (59000 BTU)

A. Résultats

Les résultats sont présentés dans le tableau XI.

Il y a 100% de réponses positives pour le dépistage en IFI. Un seul laboratoire sur 7 a rendu le titre obtenu.

Le dépistage des anticorps anti-MAG montre une unanimité des réponses à savoir positives.

Deux réponses seulement ont été rendues pour les anticorps anti-SGPG. Elles sont discordantes

	Positif	Négatif	Quantité insuffisante
Ac anti myeline (IFI)	7		
Anti MAG	5		1
Anti SGPG	1 (ELISA)	1 (Dot maison)	

Tableau XI. Résultats qualitatifs – programme MAGS

B. Conclusion

Le dépistage en IFI et l'identification des anticorps anti-MAG n'ont pas posé de problème, les résultats sont en accord avec la valeur assignée.

Il n'y avait pas de valeur assignée pour anticorps anti-SGPG et le nombre de réponses est faible. Il est difficile de porter une conclusion sur les 2 valeurs discordantes.

7 laboratoires ont participé.

Clinique : polymyalgia rheumatic, cancer du sein

Valeur assignée : Présence d'anticorps anti-muscles striés

A. Résultats

On dénombre 7 réponses négatives en IFI.

B. Conclusion

Il y a discordance entre les résultats des participants et la valeur assignée de l'expert : l'hypothèse avancée est un problème de conservation. Pour le programme 2014-2015, il est demandé aux experts qui fournissent les échantillons d'adresser un échantillon en plus afin de faire un test de stabilité en fin de l'opération de contrôle concernée. Ceci permettra de conclure à une mauvaise conservation ou chercher une cause (Erreur de retranscription des résultats par l'expert ? Tests réalisés sur échantillon différent de ceux envoyés ?).

8 laboratoires ont participé.

Clinique : suspicion de maladie systémique

Valeur assignée : Présence d'anticorps anti-nucléosome

A. Résultats

Ac anti-histones :

Les réponses ont toutes été obtenues en technique Immunodot :

- 3 réponses négatives sur réactif D-TEK
- 3 réponses positives dont une sur réactif BioAdvance (pour les 2 autres laboratoires, les réactifs n'étaient pas renseignés)
-

Ac anti-nucléosomes :

La répartition des 8 réponses est dans le tableau XII :

- 4 réponses positives (50%),
- 1 réponse douteuse,
- 3 réponses négatives.

	Positif	Douteux	Négatif
	4	1	3
IMMUNODOT	3	1	2
D Tek		1	2
BioAdvance	2		
Non renseigné	1		
ELISA	1		1
ORGENTEC	1		
D Tek			1

Tableau XII. Résultats qualitatifs – anticorps anti-nucléosomes

B. Conclusion

Pour les anticorps anti-histones, la discordance pourrait être liée à un problème réactif : malheureusement 2 laboratoires n'ont pas renseigné cet item.

Pour les anticorps anti-nucléosomes, seulement 50% des résultats sont en accord avec la valeur assignée. Le tableau XII montre que ces divergences sont dues à la nature des réactifs et non pas de la technique (Immunodot / ELISA). Lorsque l'on regarde les titres obtenus sur résultats positifs, ils sont nettement au-dessus du seuil de la technique (>200, 48, 74 U pour des seuils respectivement à 20, 5, 5).