



الأكاديمية الجزائرية للعلوم أمراض الحساسية
Académie Algérienne d'Allergologie

Disponible en ligne sur

ASJP
Algerian Scientific Journal Platform

<https://www.asjp.cerist.dz/en/PresentationRevue/588>



ARTICLE ORIGINAL

Comparaison de la recherche des autoanticorps anti nucléaires par les deux techniques d'Immunofluorescence et de chimiluminescence

Comparison of the detection of anti nuclear antibodies by indirect immunofluorescence and chemiluminescence immunoassay

Ines ALLAM^{a,*}, Asma NIBOU^a, Réda DJIDJIK^a

^a Laboratoire d'Immunologie médicale, CHU Béni messous, Alger

MOTS CLÉS

AAN ;
IFI ;
Chimiluminescence

Résumé

Introduction : La recherche des anticorps anti nucléaires (AAN) est l'un des examens les plus pratiqués en Immunologie. La positivité des AAN permet en effet d'orienter le diagnostic de nombreuses maladies auto immunes (MAI) systémiques. L'objectif de cette étude était de comparer les résultats de la recherche des AAN par les deux techniques d'immunofluorescence (IFI) et une technique de chimiluminescence.

Méthodes : La recherche des AAN a été effectuée sur 70 échantillons de patients chez lesquels une MAI été suspectée. Les AAN ont été testés sur des kits d'Hep 2 pour l'IFI et sur automate pour la chimiluminescence.

Résultats : Au cours de cette étude, les AAN étaient positifs chez 82% et 69% des échantillons testés en IFI et en chimiluminescence.

Une concordance entre les titres et les taux des deux techniques a été observée chez 83% des échantillons. En revanche, l'analyse statistique a montré une bonne concordance entre les taux d'AAN obtenus en chimiluminescence et les titres observés par technique d'IFI ($r=0.592$, $P=0,000$).

Conclusion : La technique d'IFI représente la technique de choix pour la recherche des AAN dans le cadre du diagnostic des MAI. La Chimiluminescence pourrait également être utilisée, particulièrement pour le diagnostic des connectivites.

© 2023 Revue Algérienne d'Allergologie et d'Immunologie Clinique. Tous droits réservés.

KEYWORDS

ANA
IIF
chemiluminescence
immunoassay

Abstract

Introduction: The detection of anti nuclear antibodies (ANA) is one of the most practiced test in Immunology. The positivity of ANA can provide a help to the diagnosis of many systemic autoimmune diseases (AID). The objective of this study was to compare the results of ANA research using both indirect immunofluorescence (IIF) and chemiluminescence immunoassays.

Methods: The search for ANA was performed on 70 samples of patients with suspected AID. ANA were tested on Hep 2 assays for IIF and on immunoassay for chemiluminescence.

Results: In this study, ANA were positive in 82% and 69% of the samples tested in IIF and chemiluminescence. A concordance between the titles and the rates of the two techniques was observed in 83% of the samples. On the other hand, the statistical analysis showed a good correlation between the rates of ANA obtained in chemiluminescence and the titles observed by IIF test ($r=0.592$, $P=0.000$).

Conclusion: The IIF technique represents the technique of choice for the research of ANA in the context of the diagnosis of AID. Chemiluminescence could also be used, especially for the diagnosis of connective.

© 2023 Revue Algérienne d'Allergologie et d'Immunologie Clinique. All rights reserved.

* Auteur correspondant :

Adresse e-mail : inesallam5@gmail.com (I. Allam)

Introduction :

Les auto anticorps anti nucléaires (AAN) sont considérés comme des marqueurs immunologiques très utiles pour le diagnostic et le suivi des maladies auto immunes systémiques (MAI), comme le Lupus érythémateux systémiques (LES), le syndrome de Gougerot Sjogren (SGJ) et la sclérodémie systémique (SS). De plus, les AAN font partie des critères diagnostique et sont observés dans d'autres MAI spécifiques d'organes comme l'hépatite auto immune (HAI).

Plusieurs méthodes sont désormais disponibles pour la détection des AAN et qui diffèrent entre elles par leurs sensibilités, spécificités, rapidité d'exécution du test, le cout, La technique d'immunofluorescence indirecte (IFI) est considérée comme la technique de choix pour la recherche des AAN depuis les années 1950, initialement sur les tissus de rongeurs comme substrats et depuis les années 1980 sur des cellules Hep-2. La technique d'IFI est douée d'une grande sensibilité et permet de donner deux informations primordiales qui sont le titre et le type d'aspect de la fluorescence. En effet, en fonction des aspects observés : homogène, moucheté, centromérique, nucléolaire ou cytoplasmique, l'orientation vers les cibles à identifier est plus précise. Pa exemple, un titre élevé d'AAN avec aspect homogène est associé à la présence d'anticorps anti ADNn, tandis que l'aspect moucheté (titre élevé) est associé à la présence des anticorps anti antigènes solubles. Des tests effectués donc en deuxième intention permettront d'identifier les cibles exactes de ces anticorps. De plus, la recherche des AAN est considérée comme positive si le titre est supérieur ou égal à 1/80, néanmoins de nombreux auteurs considèrent que le passage à la deuxième technique d'identification des cibles d'AAN ne devra se faire que pour un titre seuil de 1/320. En effet, le titre en

AAN peut contribuer à la distinction entre les patients avec des MAI et les sujets sains.

La détection des AAN par IFI est donc un excellent outil de screening, en revanche, la technique présente les inconvénients d'être relativement lente et de lecture et interprétation subjectives nécessitant souvent un personnel qualifié. Et en fin, la technique présente une faible spécificité pour le diagnostic des MAI en raison de la positivité des AAN observée dans une proportion importante d'individus en dehors de tout contexte clinique de MAI. [1,2].

Au cours de ces dernières années, d'autres méthodes ont été proposées comme alternatives de dépistage pour la recherche des AAN. Ces tests peuvent être entièrement automatisés et, puisqu'ils ne nécessitent pas de microscopie, ils éliminent la subjectivité liée à l'interprétation d'aspects de la fluorescence, permettant ainsi d'améliorer grandement la reproductibilité.

De plus, les fabricants de ces tests en phase solide tentent d'améliorer les performances des tests en y ajoutant des antigènes purifiés ou recombinants supplémentaires. [3,4].

L'objectif de cette étude était de comparer les résultats de la recherche des AAN par la technique standard d'IFI et par technique de chimiluminescence sur automate Maglumi X3.

Matériel et méthodes

Notre étude de type prospectif s'est effectuée sur 70 échantillons de patients dont la moyenne d'âge était de 46 ± 15 ans, 80 % était de sexe féminin et 20% de sexe masculin. Sur le plan clinique, les patients étaient adressés au laboratoire d'Immunologie pour la recherche d'AAN et présentaient des symptômes et d'atteintes systémiques en faveur de MAI : Arthralgies,

Syndrome de Raynaud, protéinurie, atteinte musculaire, syndrome sec, pneumopathie interstitielle diffuse, ...

Les AAN ont été recherché par les deux techniques d'IFI et de chimiluminescence.

Pour l'IFI, des kits ANA Hep2 (NovaLite, Inova Diagnostics) ont été utilisés conformément aux instructions du fournisseur. Les échantillons dont les titres étaient supérieurs à 1/80 sont considérés positifs. La recherche des anticorps anti antigènes solubles (ENA) ainsi que les anticorps anti ADNn a été effectuée pour les échantillons avec aspects homogènes ou mouchetés.

Les aspects nucléolaire et centromérique n'ont pas fait objet d'une deuxième étape d'identification.

Les échantillons ont été également testés par technique de chimiluminescence sur automate Maglumi x3 pour la recherche d'anticorps dirigés contre des antigènes cibles nucléaires : *dsDNA*, *histone*, *SSA*, *SSB*, *U1-RNP*, *Sm*, *centromere B*, *Jo-1*, *Scl-70*, *Rib-P* et *Mitochondire M2* avec un extrait de cellules Hep-2. Les antigènes nucléaires coâtés sur des microbilles magnétiques sont de nature native purifiés.

Les taux supérieurs à 40 UA/ml sont considérés positifs.

Résultats

Recherche d'AAN en IFI et par Chimiluminescence

Les AAN étaient positifs chez 82% et 69% des échantillons testés en IFI et en chimiluminescence.

En utilisant la technique d'IFI, les AAN avec des titres de 1/80, 1/160, 1/320, 1/640 et 1/1000 étaient présents chez respectivement 15, 13, 10, 12 et 7 patients. Les aspects étaient : homogène (18), moucheté (19), nucléolaire (9), centromérique (3) et cytoplasmique (8). (figure 1-2).

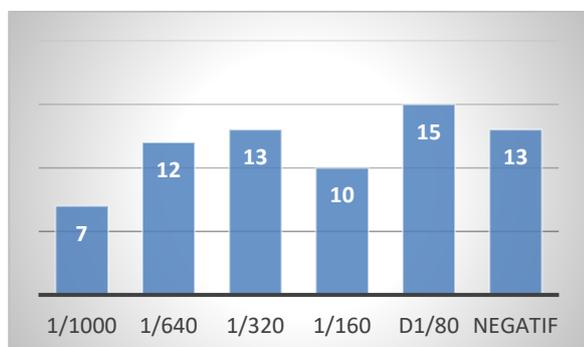


Figure 1. Répartition des titres des AAN par technique d'IFI.

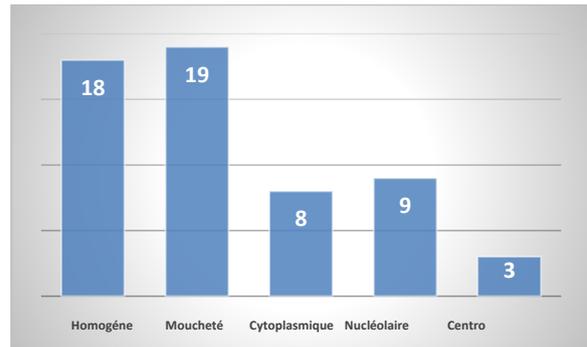


Figure 2. Répartition des aspects des AAN (+) par technique d'IFI.

Parmi les 48 échantillons positifs en AAN par technique de chimiluminescence, des taux faibles, modérés, forts et très forts étaient observés chez respectivement 14, 12, 5 et 17 sérums. (figure 3).

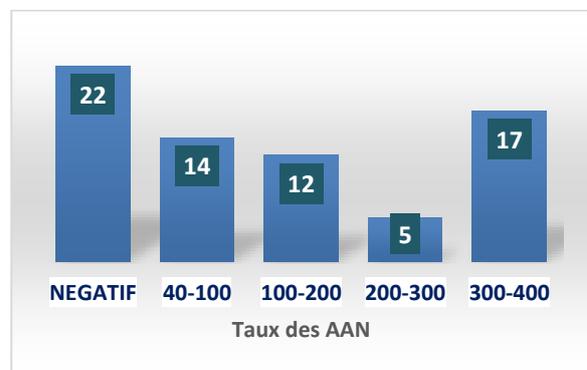


Figure 3. Répartition des taux des AAN par technique de chimiluminescence.

Comparaison de la recherche des AAN en IFI et par Chimiluminescence

La comparaison des résultats des AAN entre les deux techniques IFI et de chimiluminescence a montré une concordance dans 83% des cas (N=58), tandis qu'une discordance entre les deux techniques a été observée dans 17% (N=12) des échantillons de patients. Cette discordance était essentiellement plus marquée en technique IFI (+) et chimiluminescence (-) avec un nombre de 11 sur 12 sérums étudiés. (tableau 1).

En revanche, si on tient compte du titre seuil significatif de positivité (1/320), la concordance entre les deux techniques est observée dans 94% (N=66) des cas. De plus, un aspect de fluorescence cytoplasmique est observé pour deux des trois échantillons et dont les cibles antigéniques ne figurent pas dans le panel cible des AAN recherchés par chimiluminescence.

Tableau 1. Comparaison des résultats des AAN entre les deux technique IFI et Chimiluminescence

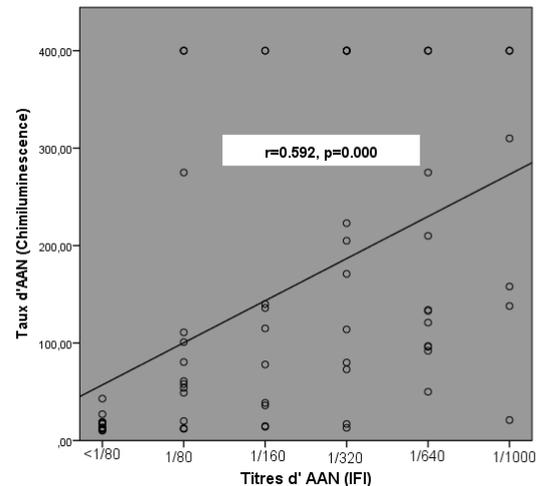
AAN		Nombre
Résultats IFI/CLIA		
Résultats concordants (N=58)		
+/+		46
-/-		12
Résultats discordants (N=12)		
+/-		11
-/+		1

L'analyse des résultats discordants a montré que les sérums positifs en IFI et négatifs en CLIA avaient des aspects : homogène (n=5), nucléolaire (n=2), moucheté (n=2) et cytoplasmique (n=2) et que les titres étaient modérés à faibles : 1/80 (n=4), 1/160 (n=4) et 1/320 (n=3). (tableau 2). Cependant, le seul sérum positif par technique de chimiluminescence et négatif en IFI avait un ratio de 43 .

Tableau 2. Résultats des 12 échantillons présentant des discordances entre les deux techniques

Sérums	Technique	
	CL	IFI
1	(-)	Homogène 1/80
2	(-)	Homogène 1/80
3	(-)	Homogène 1/80
4	(-)	Homogène 1/80
5	(-)	Homogène 1/160
6	(-)	Nucléolaire 1/160
7	(-)	Nucléolaire 1/160
8	(-)	Moucheté 1/160
9	(-)	Moucheté 1/320
10	(-)	Cytoplasmique 1/320
11	(-)	Cytoplasmique 1/320
12	(+)	(-)

En revanche, L'étude de la corrélation pour la recherche des AAN par les deux techniques a montré un résultat statistiquement significatif (coefficient de Spearman $r=0,592$ et $p=0,000$). (Figure 4).

**Figure 4. Etude de la corrélation entre les deux techniques IFI et Chimiluminescence pour la recherche des AAN.**

Discussion

La recherche des AAN est un examen primordial pour le diagnostic de nombreuses MAI. En effet, le diagnostic précoce et le traitement de ces maladies augmentent les chances de rémission et améliorent le pronostic chez les patients atteints.

Plusieurs techniques sont disponibles et pourtant la technique d'IFI est resté le test de choix dans de nombreux laboratoires d'Immunologie. Les premières études visant à rechercher les AAN à l'aide d'une technique d'IFI utilisaient des coupes de rein ou de foie de rats ou de souris comme substrats. L'utilisation de cellules HEP-2, issues d'un cancer de l'épithélium du larynx humain, a permis d'augmenter la sensibilité de la détection des AAN, probablement en raison de leur capacité à se diviser rapidement in vitro et de la présence de gros noyaux, ce qui a permis une détection optimale des différents aspects associés à des auto-anticorps spécifiques au cours des MAI. La technique présente l'inconvénient d'être relativement lente et nécessite un personnel qualifié pour l'interprétation des aspects même si des logiciels de lecture sont de plus en plus proposés. Parmi les autres techniques disponibles, la technique de chimiluminescence présente essentiellement l'avantage d'être rapide avec augmentation de sa performance en intégrant de plus en plus d'extra antigènes. [5,6,7].

Au cours de notre étude, la technique de chimiluminescence, dans laquelle 17 antigènes sont détectés, a été comparée à l'IFI pour la recherche des AAN dans 70 sérums de patients avec un contexte clinique évocateur de MAI. L'analyse statistique a montré une bonne corrélation entre les deux techniques ($r=0,592$, $P=0,000$). De plus, une concordance a été observée chez 83% et 94% des sérums en prenant en

considération des titres seuil d'AAN significatifs de 1/80 et de 1/320 respectivement.

Une méta-analyse publiée par (Omre et al, 2020) a regroupé 17 études avec plus de 17000 patients inclus, et a comparé la technique IFI à celle de l'ELISA (6 études), à l'immunofluorimétrie (10 études), à la Chimiluminescence (4 études) et au multiplexe (2 études) pour la recherche des AAN. Aucune différence significative n'a été observée entre les deux techniques IFI vs CLIA pour la sensibilité, en revanche, la méthode CLIA était plus spécifique (P=0.01). [8].

Dans une autre méta-analyse (Zhang et al, 2022) ayant regroupé 16 études et plus de 6000 patients, les auteurs ont rapporté que l'IFI sur automate avait une meilleure précision, statistiquement significative, que les autres techniques utilisées. [9].

Conclusion

La technique d'IFI représente la technique de choix pour la recherche des AAN dans le cadre du diagnostic des MAI. La Chimiluminescence pourrait également être utilisée, particulièrement pour le diagnostic des connectivites, en raison de la rapidité d'exécution du test et la bonne concordance des taux d'AAN obtenus avec la technique IFI.

Déclaration d'intérêts

Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt.

Remerciements

A tout le personnel de l'unité d'auto immunité du laboratoire d'Immunologie.

Références bibliographiques

1. Tebo AE. Recent Approaches To Optimize Laboratory Assessment of Antinuclear Antibodies. Clin Vaccine Immunol. 2017 Dec 5;24(12):e00270-17.
2. Infantino M, Carbone T, Manfredi M, et al. Study Group on Autoimmune Diseases of the Italian Society of Clinical Pathology and Laboratory Medicine. A new diagnostic algorithm for pattern-oriented autoantibody testing according to the ICAP nomenclature: A pilot study. Autoimmun Rev. 2020 Aug;19(8):102588..102588. Epub 2020 Jun 12. PMID: 32540447.
3. Terziroli Beretta-Piccoli B, Mieli-Vergani G, Vergani D. The clinical usage and definition of autoantibodies in immune-mediated liver disease: A comprehensive overview. J Autoimmun. 2018 Dec;95:144-158.
4. Sciascia S, Bizzaro N, Meroni PL, et al. Autoantibodies testing in autoimmunity: Diagnostic, prognostic and classification value. Autoimmun Rev. 2023 Jul;22(7):103356.
5. Jeong S, Yang D, Lee W, et al. Diagnostic value of screening enzyme immunoassays compared to indirect immunofluorescence for anti-nuclear antibodies in patients with systemic rheumatic diseases: A systematic review and meta-analysis. Semin Arthritis Rheum. 2018 Oct;48(2):334-342.
6. de Almeida Brito F, Maria Elói Santos S, Aparecida Ferreira G, et al. Diagnostic Evaluation of ELISA and Chemiluminescent Assays as Alternative Screening Tests to Indirect Immunofluorescence for the Detection of Antibodies to Cellular Antigens. Am J Clin Pathol. 2016 Mar;145(3):323-31.
7. Irure-Ventura J, López-Hoyos M. The Past, Present, and Future in Antinuclear Antibodies (ANA). Diagnostics (Basel). 2022 Mar 7;12(3):647.
8. Orme ME, Andalucia C, Sjölander S, et al. A hierarchical bivariate meta-analysis of diagnostic test accuracy to provide direct comparisons of immunoassays vs. indirect immunofluorescence for initial screening of connective tissue diseases. Clin Chem Lab Med. 2020 Apr 30;59(3):547-561.
9. Zhang M, Zhang X. An indirect comparison of automated indirect immunofluorescence vs automated solid-phase immunoassays for antinuclear antibody detection: A meta-analysis and adjusted indirect comparison of diagnostic test accuracy. Int J Rheum Dis. 2022 Sep;25(9):991-1002.