

Mise au point

Interférences dans les immunodosages : mécanismes et conséquences en endocrinologie

Interferences in immunoassays: Mechanisms and outcomes in endocrinology

R. Sapin

*Service d'explorations fonctionnelles par les isotopes, nouvel hôpital Civil, faculté de médecine,
UMR 7191 CNRS–université Louis-Pasteur, 67091 Strasbourg cedex, France*

Disponible sur Internet le 5 juin 2008

Abstract

Immunoassays are used daily by clinical endocrinologists to refute or confirm a diagnosis, or to follow up the course of a treatment. Immunoassays have become increasingly sensitive, specific and reproducible, so that clinicians have great confidence in their results. However, they do not always yield correct results because interferences still occur. In the first part of this review, immunoassay interferences are described and their mechanisms explained: matrix effects, specificity defaults, interferences from antibodies and binding proteins, or the hook effect. The hormones most frequently concerned by these pitfalls are reviewed, even as strategies used to prevent and minimize interferences. In the second part, the consequences of failure to recognize an interference are reviewed: unjustified clinical decisions (wrong diagnosis, treatment, surgery) and, more exceptionally, publication in the scientific literature of erroneous results. Clinicians may sometimes inform laboratories of an increased risk of interference. In general, clinicians are in the best position to fully validate test results; because only they know all the medical data about their patients. If there is any suspicion of discrepancy between clinical and laboratory data, they must alert the laboratory. This is the only way to better detect and, if possible, eliminate interferences and their regrettable outcomes.

© 2008 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Résumé

Les immunodosages sont couramment utilisés en endocrinologie pour asseoir un diagnostic ou surveiller un traitement. L'amélioration de leurs performances, sensibilité, spécificité et reproductibilité, a accru la confiance des cliniciens dans leurs résultats. Cependant, ces analyses restent sujettes à des interférences génératrices de résultats erronés. Dans la première partie de cette revue, les principales causes d'interférences sont rappelées et leurs mécanismes sont expliqués : effet matrice, défauts de spécificité, interférences d'anticorps, interférences des protéines de liaison et effet crochet. Les hormones les plus fréquemment concernées sont citées, ainsi que les moyens mis en œuvre pour minimiser la fréquence et la portée de ces interférences. Dans une seconde partie, sont présentées les conséquences de ces interférences : décisions médicales non justifiées (diagnostic, traitement, chirurgie) et, plus exceptionnellement, la publication de résultats erronés dans la littérature scientifique. Le clinicien peut, dans quelques rares cas, prévenir le laboratoire d'un risque accru d'interférence. Plus généralement, disposant de l'ensemble des informations concernant le patient, il est le mieux à même de valider complètement un bilan biologique. C'est pourquoi, confronté à un résultat qu'il juge incohérent avec le statut clinique du patient et/ou avec les autres explorations complémentaires, il se doit d'alerter le biologiste. Ce n'est que de cette façon que les interférences pourront être mieux détectées et si possible éliminées, ainsi que leurs regrettables conséquences.

© 2008 Elsevier Masson SAS. Tous droits réservés.

Keywords: Specificity; Autoantibody; Heterophilic antibody; Hook effect; Pitfall

Mots clés : Spécificité ; Auto-anticorps ; Anticorps hétérophile ; Effet crochet ; Piège

Depuis les années 1960 les dosages hormonaux réalisés à l'aide d'anticorps, immunodosages ou immunoanalyses ont révolutionné l'endocrinologie [1]. Ils se sont rapidement imposés en raison de leur sensibilité, spécificité et praticabilité

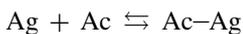
Adresse e-mail : remy.sapin@chru-strasbourg.fr.

supérieures à celles des méthodes chimiques ou biologiques précédemment utilisées. En raison de leur excellente complémentarité avec la clinique, ils sont très largement utilisés en pratique courante. Ils sont souvent la seule méthode possible pour le dosage de protéines et de peptides. Les immunodosages allient la spécificité de la reconnaissance d'une molécule par des anticorps spécifiques (polyclonaux de diverses origines animales ou monoclonaux de souris le plus souvent) à la sensibilité de la mesure du signal émis par un marqueur. Le marqueur, initialement radioactif des dosages radio-immunologiques (RIA), est maintenant souvent enzymatique (EIA), fluorescent (FIA) ou chimiluminescent (CLIA).

En raison des qualités précédentes et de leur bonne reproductibilité, conséquence de leur automatisation, les cliniciens ont de plus en plus confiance dans les résultats de ces dosages. Cependant, la banalisation de ces dosages, qui en endocrinologie contribuent parfois d'une façon décisive au diagnostic et à la surveillance du traitement, ne doit pas faire oublier qu'ils peuvent être pris en défaut dans certaines circonstances particulières [2,3]. Le problème des interférences dans les immunodosages reste d'actualité [4]. Après un rappel des principes des immunodosages nécessaire à la compréhension des mécanismes d'interférence présentés ensuite, nous envisagerons les conséquences qu'ont pu avoir de faux résultats : des décisions médicales inadaptées pour un patient, mais aussi des propositions de fausses hypothèses en recherche clinique. Enfin, à la lumière des déconvenues du passé, nous essayerons de dégager les points sur lesquels notre vigilance devrait s'exercer plus particulièrement pour éviter autant que possible que de telles erreurs ne se reproduisent.

1. Principes des immunodosages

En 1959, Yalow et Berson [5] ont proposé le principe révolutionnaire d'un dosage immunologique dans lequel un anticorps (Ac) repère et capture une substance à doser (analyte) reconnue comme antigène (Ag) selon la réaction équilibrée :



Deux grands types d'immunodosages existent, notamment :

- les dosages par compétition ;
- les dosages non compétitifs ou immunométriques.

Les principes de ces deux dosages sont schématisés sur les Figs. 1 et 2. Ces dosages sont relatifs, c'est-à-dire qu'ils se réfèrent à une gamme d'étalonnage établie à l'aide de cinq ou six étalons ou standards de concentration connue en analyte.

Les dosages par compétition utilisent un seul anticorps, le plus souvent polyclonal, présent en faible concentration par rapport à celle de l'antigène (défaut d'anticorps). L'analyte entre en compétition avec le traceur (analyte marqué) vis-à-vis de l'anticorps. Les complexes formés sont isolés par précipitation ou fixation sur une phase solide. Le signal émis par la fraction liée est mesuré, il décroît quand la concentration de l'analyte augmente.

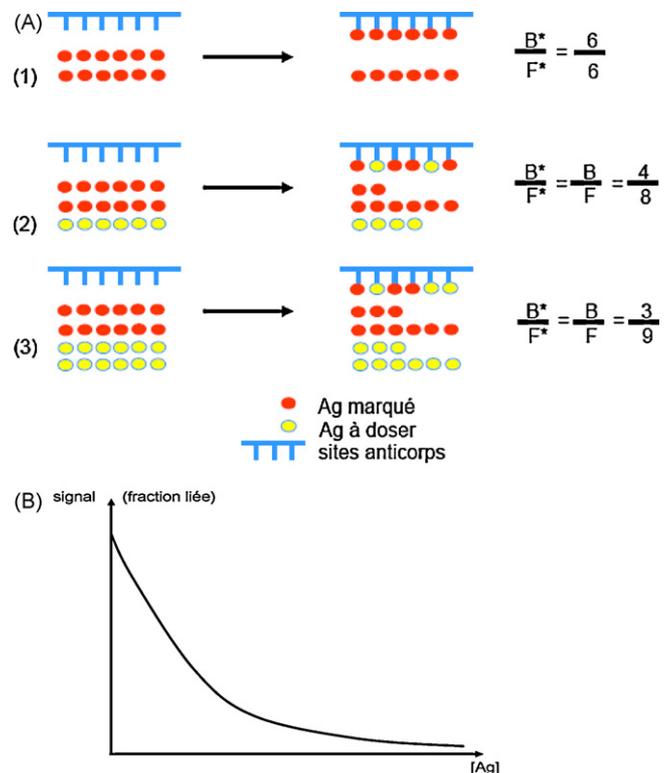


Fig. 1. Méthode par compétition. A : Représentation schématique de la compétition entre l'antigène et l'antigène marqué vis-à-vis des sites anticorps : (1) en l'absence d'antigène à doser, (2) et (3) en présence de quantités croissantes d'antigène à doser. B^* : concentration de l'antigène marqué lié à l'anticorps. F^* : concentration de l'antigène marqué libre. B : concentration de l'antigène lié à l'anticorps. F : concentration de l'antigène libre. B : Représentation schématique d'une courbe d'étalonnage. La valeur portée en ordonnée est l'intensité du signal (absorbance, nombre d'impulsions...) correspondant à la concentration d'antigène marqué lié (B^*) en fonction de la concentration en antigène non marqué. D'après « Les immunodosages : de la théorie à la pratique ». Édition de l'ACOMEN. ISBN 2-907794-00-0.

Fig. 1. Competitive immunoassay. A: Competition between (unlabeled) antigen and labeled antigen for antibody binding sites: (1) without unlabeled antigen, (2) and (3) with increasing concentrations of unlabeled antigen. B^* : antibody bound labeled antigen concentration. F^* : free labeled antigen concentration. B : antibody bound antigen concentration. F : free antigen concentration. B: Standard curve. Signal intensity (absorbance, radioactivity...) on the ordinate axis corresponds to the antibody bound labeled antigen concentration (B^*). On the abscissa axis the unlabeled antigen concentration. From *Les immunodosages : de la théorie à la pratique*. Édition de l'ACOMEN. ISBN 2-907794-00-0.

La fabrication en grande quantité d'anticorps monoclonaux a permis le développement de dosages en excès d'anticorps, dosages immunométriques (IMA) ou dosages sandwich. L'analyte est reconnu par au moins deux anticorps dont l'un est marqué (traceur) et l'autre est fixé sur une phase solide. Après séparation des fractions libre et liée, le signal émis par le traceur lié à la phase solide est mesuré. Il augmente avec la concentration de l'analyte.

Les dosages par compétition sont moins sensibles (limite de détection plus élevée) et moins spécifiques que les dosages immunométriques. Ils restent les seuls possibles pour les molécules de faible masse molaire qui, comme les hormones thyroïdiennes et les stéroïdes, ne peuvent être reconnues que par un seul anticorps. Les dosages immunométriques les ont rem-

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/3253119>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/3253119>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)