

INTÉRÊT DES ANTICORPS MONOCLONAUX DANS LE LABORATOIRE D'ANALYSES BIOMÉDICALES

V.I. MISTRETTA (1), E. CAVALIER (2), J. COLLETTE (3), L. LUTTERI (4), J.P. CHAPPELLE (5)

RÉSUMÉ : Les immunoessais, ou méthodes de dosage utilisant des anticorps comme réactifs, sont largement répandus dans les laboratoires biomédicaux. Ces méthodes de dosage permettent d'identifier et de quantifier de multiples substances dans les milieux biologiques, qu'il s'agisse de dosages de protéines spécifiques (marqueurs tissulaires divers, marqueurs de l'inflammation, hormones, facteurs de la coagulation...) ou d'immunoglobulines (anticorps viraux ou bactériens, auto-anticorps...), voire à la fois d'antigènes et d'anticorps viraux (sérologie HIV). L'utilisation d'anticorps (Ac) monoclonaux a permis, grâce à leur spécificité pour un épitope unique de la molécule cible, l'avènement d'immunoessais de plus en plus perfectionnés. L'emploi des Ac monoclonaux dans les microarrays permet, notamment, le dosage simultané de protéines diverses (profil inflammatoire, profil cardiaque, IgE spécifiques...) avec rapidité et précision. Outils remarquables, les techniques de laboratoire utilisant les anticorps comme réactifs de dosage restent, cependant, sensibles à diverses interférences analytiques qui, dans certains cas, peuvent modifier significativement le résultat de l'analyse.

MOTS-CLÉS : *Immunoessais - Anticorps monoclonaux - Interférences analytiques - Microarrays*

INTEREST OF MONOCLONAL ANTIBODIES IN THE BIOMEDICAL LABORATORY ANALYSIS

SUMMARY : Immunoassays, or assays with antibodies as reagents, are widely used in medical laboratories. These assays are used to identify and quantify various substances in biological fluids, such as specific proteins (various tissue markers, markers of inflammation, hormones, coagulation factors...) or immunoglobulins (viral or bacterial antibodies, auto-antibodies...) and even both viral antigens and antibodies (HIV virology). The use of monoclonal antibodies allowed, through their specificity for a single epitope of the target molecule, the development of increasingly sophisticated immunoassays. In particular, the use of monoclonal antibodies with microarrays permits the simultaneous determination of various proteins (inflammatory profile, cardiac profile, specific IgE...) quickly and accurately. Very important tools in the clinical laboratory, immunoassays techniques are, however, subject to various analytical interferences which may be responsible for significant changes in the test results.

KEYWORDS : *Immunoassays - Monoclonal antibodies - Analytical interferences - Microarrays*

INTRODUCTION

En 1975, Georges Köhler et César Milstein produisent les premiers anticorps (Ac) monoclonaux en appliquant aux lymphocytes B les techniques de fusion cellulaire et de sélection des cellules hybrides (1). Leur méthode consistait à fusionner les lymphocytes B normaux d'une souris avec des cellules de myélome, la souris ayant été préalablement immunisée avec des globules rouges de mouton. Cette fusion a donné lieu à des cellules hybrides, ou hybridomes, produisant des anticorps spécifiques, dirigés contre les globules rouges de mouton et identiques à ceux que les lymphocytes B de la souris fabriquaient. Ces hybridomes, capables de se multiplier indéfiniment, possèdent les propriétés d'immortalité des cellules de myélome (1, 2). Les anticorps produits, provenant d'un même clone d'hybridome et donc identiques, ont été appelés monoclonaux. Ils ne reconnaissent qu'un seul épitope sur un antigène donné.

Cette technique des hybridomes, devenue un outil de production de grandes quantités d'anticorps hautement spécifiques, a eu des réper-

cussions considérables sur les méthodes de diagnostic et de traitement ainsi que sur l'ensemble de la recherche biomédicale.

Cet article est plus particulièrement consacré à l'intérêt des Ac monoclonaux dans les laboratoires d'analyses biomédicales.

ANTICORPS MONOCLONAUX ET APPLICATIONS AU LABORATOIRE

Au laboratoire, les Ac monoclonaux sont utilisés comme réactifs pour le dosage spécifique de molécules (protéines, hormones peptidiques, anticorps, auto-anticorps, antigènes viraux et bactériens et autres antigènes environnementaux) dans un milieu biologique, pour la purification et l'enrichissement d'antigènes, de molécules associées à un antigène ou de cellules exprimant un antigène, et pour la recherche fondamentale ou appliquée (3, 4). L'usage des Ac monoclonaux s'est ainsi généralisé à tous les laboratoires d'analyses médicales, leur principale application étant leur utilisation comme réactifs dans un nombre important d'immunodosages.

Bien que présentant de nombreuses variantes, les immunodosages couramment utilisés au laboratoire sont généralement de deux types, immunocompétitifs et immunométriques (ou non compétitifs), les seconds incluant les essais immunoturbidimétriques et néphélométriques

(1) Assistante, (2) Chef de Laboratoire, (3) Chercheur qualifié, (4) Chef de Laboratoire, (5) Chef de Service, Service de Chimie médicale, CHU de Liège.

(5). Cependant, les dosages utilisant des Ac monoclonaux sont le plus souvent des immunodosages immunométriques de type «sandwich», par exemple, les Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay ou ELISA. Le principe de l'ELISA est d'utiliser deux Ac monoclonaux en concentration excédentaire par rapport à celle de l'antigène d'intérêt (Fig. 1). L'un de ces Ac est fixé sur la phase solide et l'autre est marqué (traceur ou conjugué). L'antigène se lie à l'Ac de la phase solide et est pris en sandwich entre celui-ci et l'Ac marqué. Après élimination de l'excès d'Ac marqué, le signal émis par le traceur lié à la phase solide est mesuré, son intensité étant directement proportionnelle à la concentration de l'antigène d'intérêt (6, 7).

Ces techniques conviennent particulièrement bien pour le dosage de divers marqueurs protéiques ou d'hormones, mais, moyennant certaines adaptations, elles peuvent aussi permettre le dosage d'anticorps. Des méthodes sont également disponibles pour le dosage simultané d'antigènes et d'anticorps, viraux notamment.

DOSAGE DE BIOMARQUEURS

Un premier exemple est l'application des Ac monoclonaux au dosage de la procalcitonine (PCT) plasmatique. En réponse à une stimulation pro-inflammatoire, et, en particulier, à une stimulation d'origine bactérienne, la PCT est sécrétée par différents types cellulaires de nombreux organes et est libérée dans le sang. Ses concentrations plasmatiques étant corrélées à la sévérité de l'infection, la PCT peut être utile, par exemple, pour évaluer le risque de progres-

sion en sepsis sévère et choc septique chez les patients hospitalisés en unité de réanimation (8). La technique de dosage est un Enzyme-Linked-Fluorescent-Assay (ELFA), une variante de l'ELISA (VIDAS® PCTD de BioMérieux). L'Ac lié à la phase solide (la paroi interne d'une cuvette réactionnelle) est une immunoglobuline monoclonale de souris anti-PCT humaine dirigée contre un épitope situé sur la PCT. On ajoute dans la cuvette l'échantillon à doser ainsi que l'Ac conjugué (Ac monoclonal de souris anti-PCT humaine reconnaissant un épitope distinct de la PCT, marqué à la phosphatase alcaline). Une étape d'incubation permet à la PCT de se lier, d'une part, à l'Ac fixé sur la paroi et, d'autre part, au conjugué, formant ainsi un «sandwich». Une étape de lavage élimine les composés non fixés. Suit alors l'étape de révélation au cours de laquelle le substrat (4-méthylombelliféryl phosphate) est ajouté à la cuvette. L'enzyme conjugué catalyse la réaction d'hydrolyse de ce substrat (4-méthylombelliféryl) dont la fluorescence émise est mesurée à la longueur d'onde de 450 nm. La valeur du signal de fluorescence est proportionnelle à la concentration de la PCT présente dans l'échantillon.

Un autre exemple est celui du dosage de la troponine T cardiaque (cTnT), isoforme myocardique de la sous-unité T du complexe de la troponine (TnT). C'est grâce à l'utilisation d'Ac monoclonaux dirigés spécifiquement contre l'isoforme cardiaque que l'on peut doser la cTnT sans aucune réaction croisée avec les isoformes de la TnT du muscle squelettique. La cTnT constitue actuellement le marqueur cardiaque le

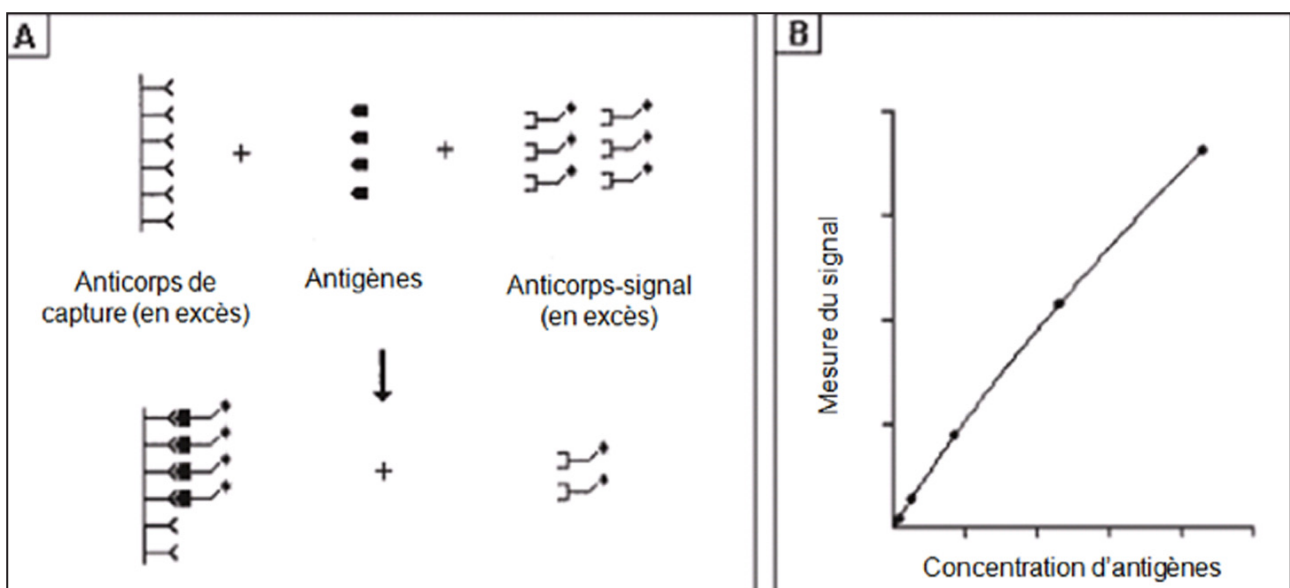


Figure 1. Principe d'un essai immunométrique (par exemple ELISA) (5). A : Réaction antigène-anticorps. B : Relation proportionnelle entre l'intensité du signal mesuré et la concentration d'antigènes. Autorisations de l'auteur et de l'éditeur accordées.

plus sensible et le plus spécifique (9). Ainsi, en routine de laboratoire, la cTnT est dosée par une méthode immunologique de type «sandwich» utilisant deux Ac monoclonaux dirigés contre la cTnT humaine (Analyseur Cobas® de Roche Diagnostics). Le déroulement du dosage est le suivant : lors d'une première incubation, une prise d'essai de l'échantillon, plasmatique ou sérique, est mise en présence d'un Ac monoclonal anti-cTnT marqué à la biotine et d'un second Ac monoclonal marqué au ruthénium. Les molécules de cTnT de l'échantillon du patient sont ainsi prises en «sandwich» entre ces deux Ac monoclonaux spécifiques dirigés contre deux épitopes distincts. L'originalité de cette technique est que ce «sandwich», libre dans un premier temps, est ensuite fixé à la phase solide (dans ce cas, des microparticules tapissées de streptavidine) par l'établissement d'une liaison streptavidine-biotine (celle-ci présente sur le premier Ac). La liaison au support solide permet l'étape de lavage pour éliminer les composés non fixés. C'est le ruthénium du 2^{ème} Ac qui sert de signal pour le dosage proprement dit, selon une réaction dite d'électrochimiluminescence (ECLIA). L'utilisation du système streptavidine-biotine pour lier le «sandwich» à la phase solide permet d'utiliser ce système pour des dosages de biomarqueurs différents en faisant appel pour tous les dosages à la même phase solide (microparticules tapissées de streptavidine), seuls les systèmes d'Ac étant différents pour chaque biomarqueur à doser.

DOSAGE D'ANTICORPS

Le concept de «sandwich» peut aussi s'appliquer au dosage ou à la caractérisation d'un anticorps témoin d'une affection. Dans ce cas, le système de capture peut être différent de celui impliqué dans un «sandwich» classique. Des «pseudo-sandwichs» sont ainsi formés avec, comme système de capture, l'antigène ayant induit la réponse humorale, par exemple, un antigène de surface d'un micro-organisme, tel que l'antigène de la nucléocapside du virus de l'hépatite B, ou Hbc (Analyseur Cobas® de Roche Diagnostics). L'anticorps à caractériser est ainsi pris en «sandwich» entre l'antigène de l'agent infectieux fixé en excès sur la phase solide et l'Ac monoclonal traceur dirigé contre un isotype du fragment Fc de l'anticorps de la réponse humorale.

Dans certains cas, les immunoessais permettent de doser à la fois des antigènes et des anticorps. Les Ac monoclonaux peuvent être utilisés, par exemple, pour le dépistage d'une infection au virus de l'immunodéficience humaine (HIV).

Le test immunologique mis en œuvre permet la détermination qualitative *in vitro* de l'antigène p24 du HIV-1 et des anticorps anti-HIV-1 (groupe M et O) et anti-HIV-2 dans le sérum et le plasma humain, par technique ELFA (VIDAS® HIV DUO Ultra de BioMérieux).

Le principe du dosage associe deux réactions immunoenzymatiques avec deux détections finales en fluorescence (ELFA). Lors d'une première incubation, l'échantillon est mis en présence d'Ac monoclonaux anti-p24 biotinylés et d'Ac monoclonaux anti-p24 fixés sur une phase solide. Ainsi, les antigènes p24 du virus sont pris en «sandwich» entre ces 2 types d'Ac reconnaissant deux épitopes différents. Sur une seconde partie de la même phase solide sont fixés des antigènes, protéine gp160 de HIV-1 et peptides de synthèse spécifiques du HIV-1 et du HIV-2. Lors de la première incubation, les anticorps anti-HIV-1 et/ou anti-HIV-2 de l'échantillon sont ainsi reconnus par ces antigènes fixés sur la phase solide et s'y lient. Lors de la deuxième incubation, des antigènes biotinylés se fixent aux anticorps anti-HIV préalablement liés dans l'étape précédente. Une troisième incubation avec de la streptavidine marquée à la phosphatase alcaline est réalisée sur la totalité de la phase solide. Dans cette étape, la streptavidine se fixe aux anticorps anti-p24 biotinylés et aux antigènes biotinylés liés lors de la seconde incubation. Après chaque phase d'incubation, les réactifs en excès sont éliminés par des étapes de lavage. Ensuite, le substrat (4-méthyl-ombelliferyl phosphate) de la phosphatase alcaline est incubé en deux étapes avec la phase solide et les fluorescences émises sont mesurées. L'intensité de ces fluorescences est proportionnelle aux concentrations d'anticorps anti-HIV et d'antigènes p24 du HIV-1 présents dans l'échantillon.

IDENTIFICATION ET TRI DE POPULATIONS CELLULAIRES

Un autre usage intéressant des Ac monoclonaux est, notamment, leur emploi en hématologie où ils permettent la reconnaissance par cytométrie de flux de multiples populations cellulaires physiologiques ou pathologiques. Cette technologie est devenue essentielle au diagnostic, au pronostic et au traitement des leucémies et des lymphomes (10). Le principe de la cytométrie de flux est le suivant : les cellules hématopoïétiques sont mises en présence d'Ac monoclonaux qui sont dirigés contre leurs antigènes membranaires et marqués avec des fluorochromes. Ces cellules sont ensuite mises en suspension et ciblées par un ou plusieurs lasers au niveau d'une chambre de lecture. Les fluorochromes des Ac monoclonaux fixés sur les cellules fluorissent alors à différentes longueurs

d'onde qui sont recueillies en temps réel sur des photomultiplicateurs par l'intermédiaire de jeux de filtres. Ainsi, les fluorescences émises sont spécifiques de chacun des Ac monoclonaux et leur intensité est généralement proportionnelle à l'expression antigénique, ce qui permet de mesurer la densité antigénique à la surface d'une cellule. Les Ac monoclonaux utilisés pour le marquage cellulaire ont ainsi été assignés à différents clusters de différenciation (CD) qui permettent de classifier

les nombreux antigènes membranaires existants (plus de 250) (10, 11).

Ainsi, en cas de diagnostic d'hémopathie maligne, la cytométrie de flux associée à l'usage des Ac monoclonaux permet, notamment, de caractériser le composant cellulaire normal dont dérive la prolifération tumorale, l'origine de la prolifération étant à la base de la classification des hémopathies. Dans ce cas, des Ac monoclonaux clustérisés et communs à chaque lignée sont utilisés : CD3, situé sur les Lymphocytes T, CD19 ou

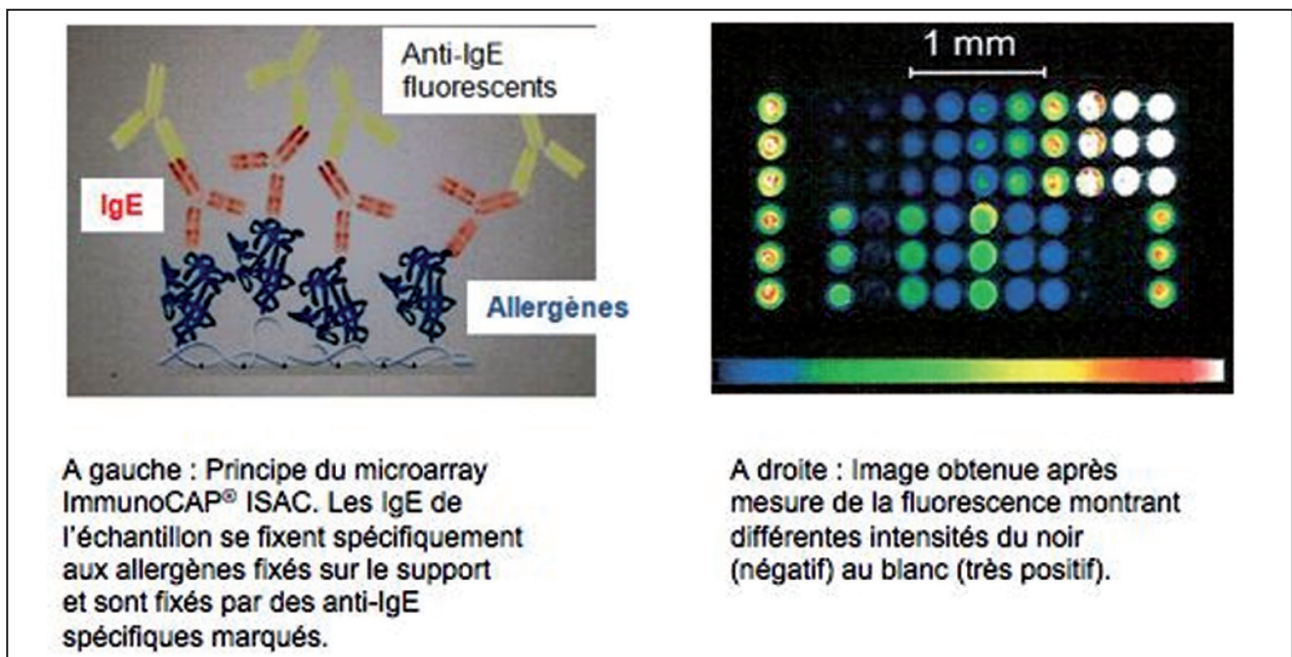


Figure 2. Principe de microarray d'après l'ImmunoCAP®ISAC des sociétés Phadia & VBC Genomics.

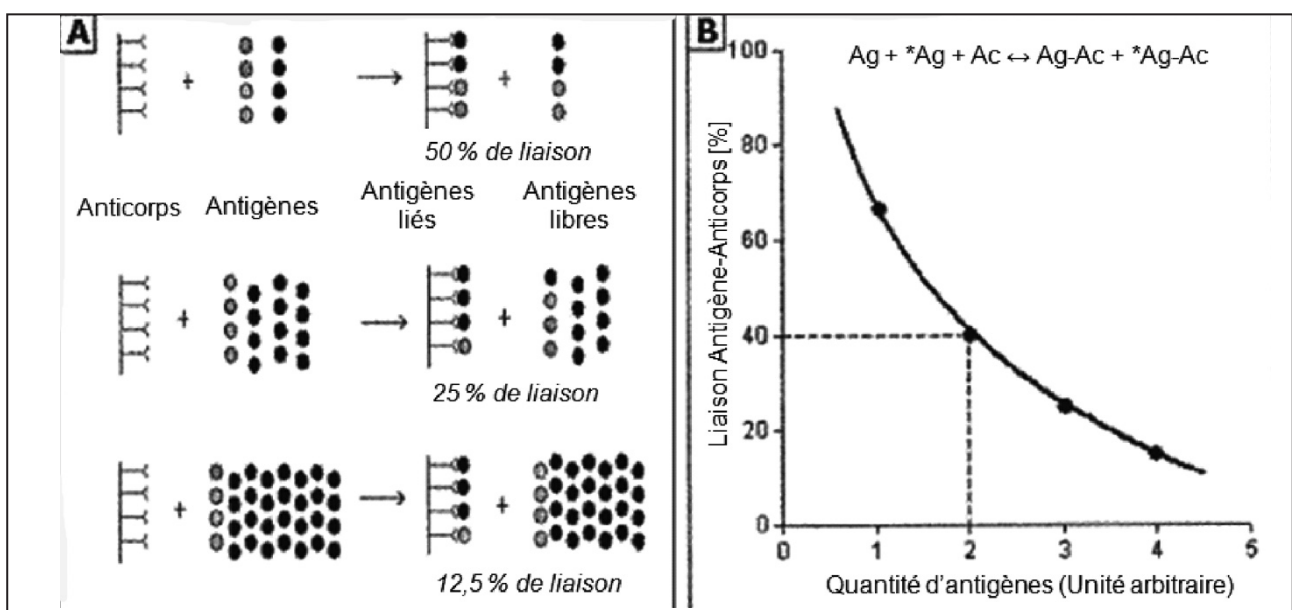


Figure 3. Principe d'un essai immunocompétitif (par exemple RIA) (5). A : Réaction antigène-anticorps et pourcentage de liaison antigène-anticorps. B : Relation inversement proportionnelle entre le pourcentage de liaison antigène-anticorps et la quantité d'antigènes. Autorisations de l'auteur et de l'éditeur accordées.

CD20 sur les lymphocytes B, CD56 et/ou CD16 sur les lymphocytes NK, CD13 ou CD33 sur les cellules granulo- et monocytaires. Le degré de différenciation au sein de cette lignée est ensuite déterminé par l'analyse d'expressions antigéniques aberrantes. Par exemple, la coexpression du marqueur d'immaturité CD34 avec CD33 permet de parler de blastes myéloïdes en accord avec le diagnostic de leucémie aiguë myéloblastique, tandis que ce même marqueur CD34 associé à CD19 est en faveur du diagnostic de leucémie aiguë lymphoblastique (11).

IMMUNOESSAIS ET MICROARRAYS

Dans le domaine des immunoessais, les développements les plus récents concernent les microarrays. Utilisés dans un premier temps pour analyser le profil d'expression des gènes (transcriptome), ils ont trouvé aussi des applications importantes dans le domaine de l'étude des protéines connues (antigènes) dans les milieux biologiques. Ainsi, les microarrays permettent la quantification simultanée d'antigènes multiples dans le sang. Il s'agit de dispositifs solides (verre, plastique, silicone) comportant un réseau de zones de test (spots) indépendants les uns des autres. Sur chacun de ces spots microscopiques, sont immobilisés des Ac monoclonaux spécifiques à différents antigènes présents dans

l'échantillon. Dans cette technique apparentée à l'ELISA – à la différence qu'elle permet la détection simultanée d'un nombre élevé de protéines dans le même échantillon – les antigènes présents se lient à leur Ac spécifique. On ajoute ensuite un panel d'Ac monoclonaux spécifiques marqués qui se lient à l'antigène, formant le «sandwich» classique de l'ELISA. L'Ac marqué (par exemple, à la peroxydase), mis en contact avec un substrat approprié, permettra de générer le signal de la réaction (par exemple, luminescent). Les signaux générés au niveau de chaque zone de test sur le microarray sont simultanément détectés par un dispositif d'analyse d'images et les concentrations des antigènes sont calculées (12, 13).

Une des applications du microarray au laboratoire est l'ImmunoCAP® ISAC (Sociétés Phadia & VBC Genomics) qui permet de doser simultanément plus de 100 IgE spécifiques chez les patients allergiques. Dans ce cas, des allergènes recombinants sont immobilisés sur les zones tests du microassay. Les IgE spécifiques de l'échantillon du patient reconnaissent les allergènes recombinants et s'y fixent. Des Ac monoclonaux de souris anti-IgE humaines marqués par un fluorophore sont ajoutés et se fixent aux IgE spécifiques liées aux allergènes recombinants. La quantification des IgE s'obtient par la

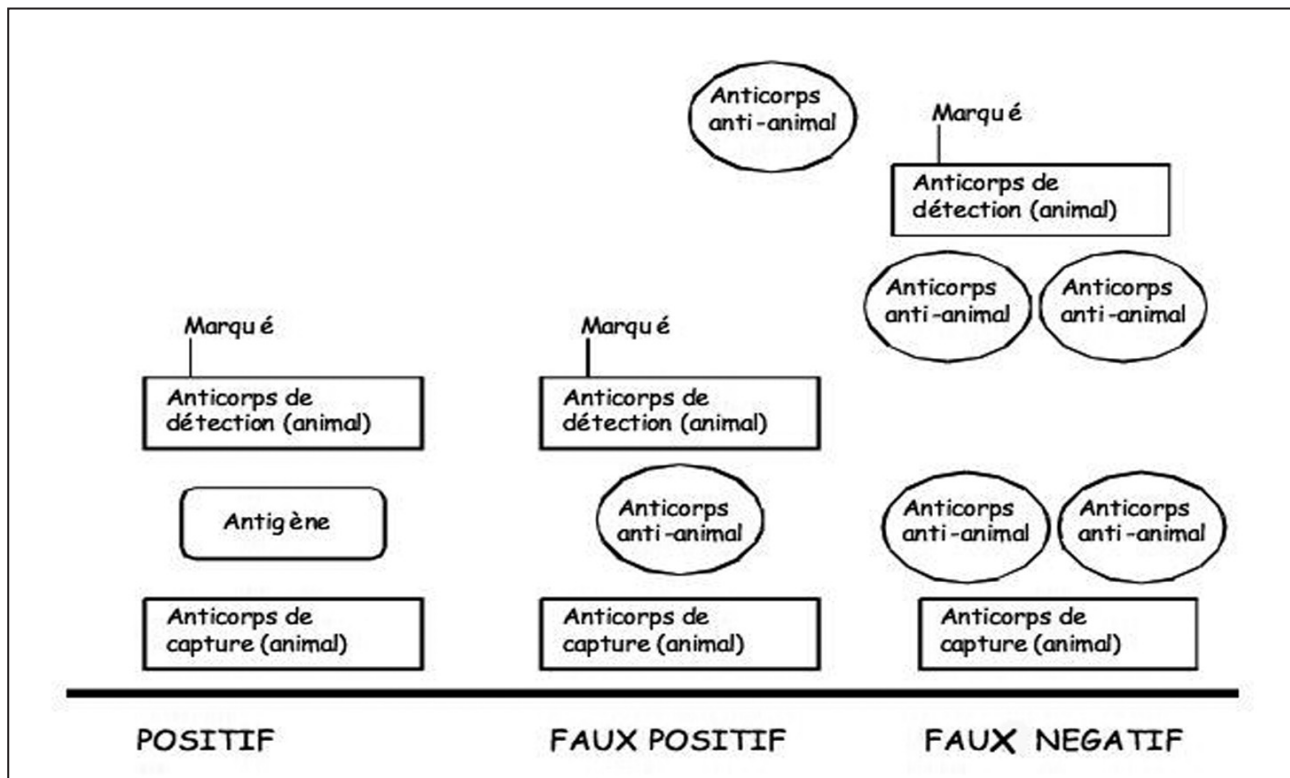


Figure 4. Mécanisme des interférences dues aux anticorps hétérophiles dans les immunoessais non compétitifs à deux anticorps (15). Autorisations de l'auteur et de l'éditeur accordées.

mesure de l'intensité de la fluorescence émise au niveau de chaque spot (Fig. 2).

AUTRES DOSAGES IMMUNOLOGIQUES

Les immunodosages autres que ceux de type «sandwich», utilisés au laboratoire et cités précédemment, utilisent le plus souvent un antisérum polyclonal au lieu d'Ac monoclonaux. En effet, d'une part, la plupart des dosages par compétition (par exemple, les radioimmunoassays ou RIA) utilisent un antisérum polyclonal dont la concentration est choisie pour être déficitaire par rapport à celle de l'antigène marqué considéré (Fig. 3). Le principe de l'essai est que ce dernier entre en compétition vis-à-vis de l'Ac avec un antigène de même espèce mais marqué (traceur). Les complexes formés sont ensuite isolés par précipitation ou par fixation sur une phase solide. Après lavage du précipité ou de la phase solide, le signal émis par le traceur est mesuré; son intensité est inversement proportionnelle à la concentration de l'antigène d'intérêt (6, 7). D'autre part, les essais immunonéphélométriques et immunoturbidimétriques n'utilisent qu'un seul antisérum non marqué. Dans ces techniques, le signal de la réaction est la formation de complexes antigène-Ac qui, dans certaines conditions, donnent un précipité dont la concentration peut être mesurée grâce à la propriété qu'ont les particules qui le constituent de diffuser la lumière incidente. Ainsi, en immunonéphélométrie, l'intensité de la lumière diffusée est-elle proportionnelle à la concentration du complexe immun et, par conséquent, à celle de l'antigène d'intérêt (5).

Les dosages non compétitifs sont plus sensibles et plus spécifiques que les dosages par compétition. De plus, comme leur plage de mesure est généralement plus grande, ils sont aussi plus pratiques car ils nécessitent moins de reprises sur dilution. Cependant, les dosages par compétition sont le plus souvent réservés aux molécules de faible poids moléculaire (< 5.000 Da), par exemple, les stéroïdes, dont la taille ne permet pas la présence de deux épitopes distincts nécessaires à la production des deux Ac utilisés dans les essais immunométriques de type «sandwich». Pour les autres molécules de poids moléculaire plus élevé, par exemple, l'insuline, les dosages immunométriques ont remplacé progressivement les dosages par compétition (5, 7).

INTERFÉRENCES ANALYTIQUES POUVANT AFFECTER LES IMMUNODOSAGES

Les interférences analytiques sont définies comme «l'effet d'une substance présente dans

un système analytique qui cause une déviation de la valeur mesurée de la valeur vraie» (14). Plusieurs catégories d'interférences analytiques peuvent affecter les immunoessais; les plus courantes sont les suivantes :

- *La réactivité croisée* est la capacité de molécules distinctes de l'antigène à mesurer à se lier à un anticorps du système de dosage en raison d'analogies structurales. Ces molécules peuvent être, par exemple, des métabolites inactifs de médicaments, des molécules voisines (par exemple, FSH, LH, TSH) ou encore des fragments de peptides, comme les gros fragments C-terminaux dans le dosage de la PTH dite «intacte». Les phénomènes de réactivité croisée sont donc responsables d'une surévaluation de l'antigène recherché. Ils varient fortement selon les systèmes analytiques (5).

- *L'hétérogénéité moléculaire* résulte de la présence de plusieurs formes actives de la molécule d'intérêt; c'est le cas, par exemple, des isoformes hyperglycosylées de l'hormone chorionique gonadotrope (hCG) qui résultent de modifications post-transcriptionnelles. Si une ou plusieurs de ces formes ne réagissent pas de façon équimolaire comparativement à celle qui constitue l'antigène recherché, l'hétérogénéité moléculaire peut induire une sous-évaluation de la quantité totale de celui-ci (5).

- *La présence d'anticorps hétérophiles*, peut être un facteur d'erreur dans les immunoessais (15). Un Ac hétérophile provient d'une source (humaine) différente de celle des Ac utilisés dans le dosage (animale) et est capable de se lier à ces derniers. Il existe différents types d'anticorps hétérophiles : les Ac humains anti-animaux, le facteur rhumatoïde et les Ac humains anti-idiotypes. Les Ac anti-animaux sont des anticorps spécifiques, généralement à forte affinité, produits chez des individus, le plus souvent suite à leur exposition à des protéines d'origine animale, par exemple, en cas de morsure, de vaccin ou de contact prolongé avec des animaux. Leur origine n'est pas toujours facile à déterminer. Les deux autres types d'Ac hétérophiles sont des Ac humains naturels, généralement de faible affinité, dont certains sont associés aux maladies auto-immunes. Ils ne sont pas spécifiques d'une immunoglobuline ou d'une espèce (5, 16). En routine, ce type d'interférence n'est pas rare. Ainsi, des résultats faussement positifs dus à la présence d'Ac hétérophiles ont été rapportés pour les dosages de la PTH plasmatique, que les Ac utilisés soient polyclonaux (17) ou monoclonaux (18). La présence d'Ac hétérophiles peut aussi empêcher la liaison de l'antigène d'intérêt au système d'Ac utilisé dans l'immunoessai. Il en

résulte alors un résultat faussement négatif (Fig. 4).

D'autres interférences, telles que l'effet crochet, l'effet matrice et les interactions avec le système de marquage (traceur radioactif, réaction enzymatique, etc.) sont également à prendre en compte (7, 14, 19).

Une interférence d'un type particulier, autre qu'analytique, peut être observée au laboratoire. C'est le cas des manifestations auto-immunes fréquemment observées lors d'un traitement par anti-TNF α : apparition d'Ac anti-nucléaires chez 20 à 50 % des patients, d'Ac anti-DsDNA (le plus souvent IgM) chez 15 à 20 % des cas ainsi que, plus rarement, d'Ac anti-histones. Ces manifestations sont plus fréquentes sous infliximab que sous d'autres anti-TNF α . Les auto-Ac apparaissent dès 4 à 10 semaines de traitement, quelle que soit la pathologie motivant le traitement. Leurs taux, parfois très élevés, fluctuent au cours du temps et ils disparaissent en 3 à 6 mois après l'arrêt du traitement. Ces phénomènes d'auto-immunité n'ont, le plus souvent, aucune traduction clinique; très peu de patients développent un lupus induit et la présence de ces Ac n'est pas une contre-indication à la poursuite du traitement (20).

Même si fabricants et biologistes mettent en oeuvre des moyens techniques visant à diminuer, voire supprimer, les interférences, les cliniciens doivent donc toujours être conscients que les immunodosages ne sont pas infaillibles. Il leur est recommandé de prendre contact avec le laboratoire pour tout résultat qui ne leur semble pas correspondre à la clinique.

CONCLUSION

La découverte, par Köhler et Milstein, du moyen de produire les Ac monoclonaux de façon standardisée et illimitée, et leur utilisation dans la conception des immunoessais et des microarrays, ont révolutionné le domaine de l'analyse biologique. Ils n'ont pas complètement remplacé les anticorps polyclonaux, principalement en raison des moindres coûts de production de ces derniers. Les Ac monoclonaux ont, néanmoins, contribué à l'expansion de l'immunoanalyse dans toutes les disciplines biomédicales, en raison principalement de leur capacité à lier avec un haut degré d'affinité et de spécificité de multiples composés antigéniques dans les milieux biologiques.

BIBLIOGRAPHIE

1. Köhler G, Milstein C.— Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature*, 1975, **256**, 495-497.

2. Siberil S, Dutertre CA, Boix C, et al.— Anticorps monoclonaux à usage thérapeutique : un peu d'histoire, beaucoup d'ingénierie, et ... quelques succès cliniques. *Transf Clin et Biol*, 2005, **12**, 114-122.
3. Lipman NS, Jackson LR, Trudel LJ et al.— Monoclonal versus polyclonal antibodies: distinguishing characteristics, applications, and information resources. *ILAR J*, 2005, **46**, 258-267.
4. Repère médical, Revue n°5.— <http://www.repere-medical.com/article-53.html>. Consultation du 24 mars 2009.
5. Lepage R.— Les problèmes de réactivité croisée et d'interférences hétérophiles dans les tests immunologiques. *Ann Biol Clin Que*, 2005, **42**, 21-29.
6. Diamandis EP.— Immunoassay interference : a relatively rare but still important problem. *Clin Biochem*, 2004, **37**, 331-332.
7. Sapin R.— Interferences in immunoassays : Mechanisms and outcomes in endocrinology. *Ann Endocrinol*, 2008, **69**, 415-425.
8. Christ-Crain M, Müller B.— Procalcitonin in bacterial infections hype, hope, more or less? *Swiss Medical Weekly*, 2005, **135**, 451-460.
9. Lavoigne A, Cauliez B.— Les troponines I et T cardiaques : des marqueurs spécifiques du cardiomyocyte. *Rev Méd Int*, 2004, **25**, 115-123.
10. Canellini G, Spertini O.— Les anticorps monoclonaux: outil diagnostique en hématologie. *Rev Méd Suisse*, 2004, **62**, 816-822.
11. Drénou B, Fardel O, Fauchet R, et al.— La cytométrie en flux : intérêt dans le diagnostic phénotypique et le suivi des hémopathies malignes. *Ann Biol Clin*, 2002, **60**, 663-672.
12. Schena M.— *Microarray analysis*. John Wiley & Sons, New Jersey, 2003, 1-23.
13. Ekins RP.— Ligand assays : from electrophoresis to miniaturized microarrays. *Clin Chem*, 1998, **44**, 2015-30.
14. Selby C.— Interference in immunoassay. *Ann Clin Biochem*, 1999, **36**, 704-721.
15. Kricka LJ.— Human anti-animal antibody interferences in immunological assays. *Clin Chem*, 1999, **45**, 942-956.
16. Durand G, Beaudeau JL.— *Biochimie médicale, marqueurs actuels et perspectives*, 1^{ère} édition. Lavoisier, Paris, 2008, 28.
17. Cavalier E, Delanaye P, Carlisi A, et al.— An unusual interference in parathormone assay caused by anti-goat IgG : a case report. *Clin Chem Lab Med*, 2009, **47**, 118.
18. Cavalier E, Carlisi A, Chapelle JP, et al.— Human anti-mouse antibodies interferences in Elecsys PTH assay after OKT3 treatment. *Transplantation*, 2009, **87**, 451-452.
19. Miller JJ, Levinson SS.— Interferences in immunoassays, in Diamandis EP et Christopoulos TK Ed. *Immunoassay*. Academic Press, Californie, 1996, 165-190.
20. De Rycke L, Baeten D, Kruithof E, et al.— The effect of anti-TNF α blockade on the antinuclear antibody profile in patients with chronic arthritis : biological and clinical implications. *Lupus*, 2005, **14**, 931-937.

Les demandes de tirés à part sont à adresser au Pr. J.P. Chapelle, Service de Chimie médicale, CHU de Liège, 4000 Liège, Belgique.