

GEAI 2016



Vraisemblance des résultats biologiques dans le domaine de l'auto-immunité

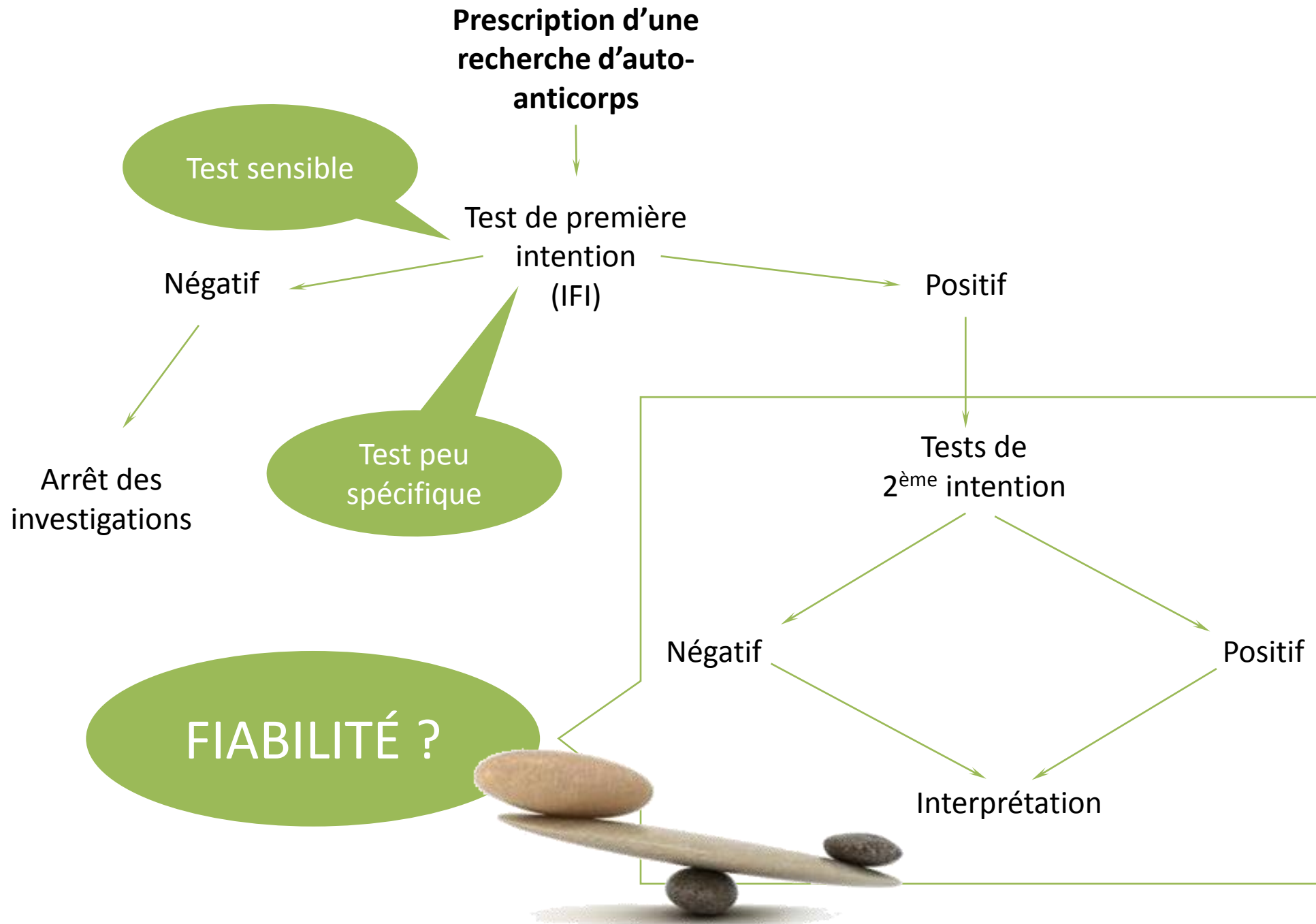
Cherchez la cohérence !

sylvain.dubucquoi@chru-lille.fr

*Institut d'Immunologie, Pôle de Biologie-Pathologie Génétique
CHRU de Lille*

Le contexte

- Immunologie biologique : une spécialité pleine « d'incertitudes »
 - Réactions Ag-Ac = interactions faibles
 - Nombreuses interférences
 - Absence de méthodes de référence
 - Manque de standardisation
 - Frontières entre auto-immunité « physiologique » et pathologique ?
 - ...
- La synthèse et la validation des résultats : une activité qui peut être complexe et « délicate »
- Place du biologiste : « expertise »



**Prescription d'une
recherche d'auto-
anticorps**

Aspects
de fluorescence

Test de première
intention
(IFI)

Titres

Positif

Tests de
2^{ème} intention

Cohérence ?

Négatif

Positif

Tests de
confirmation

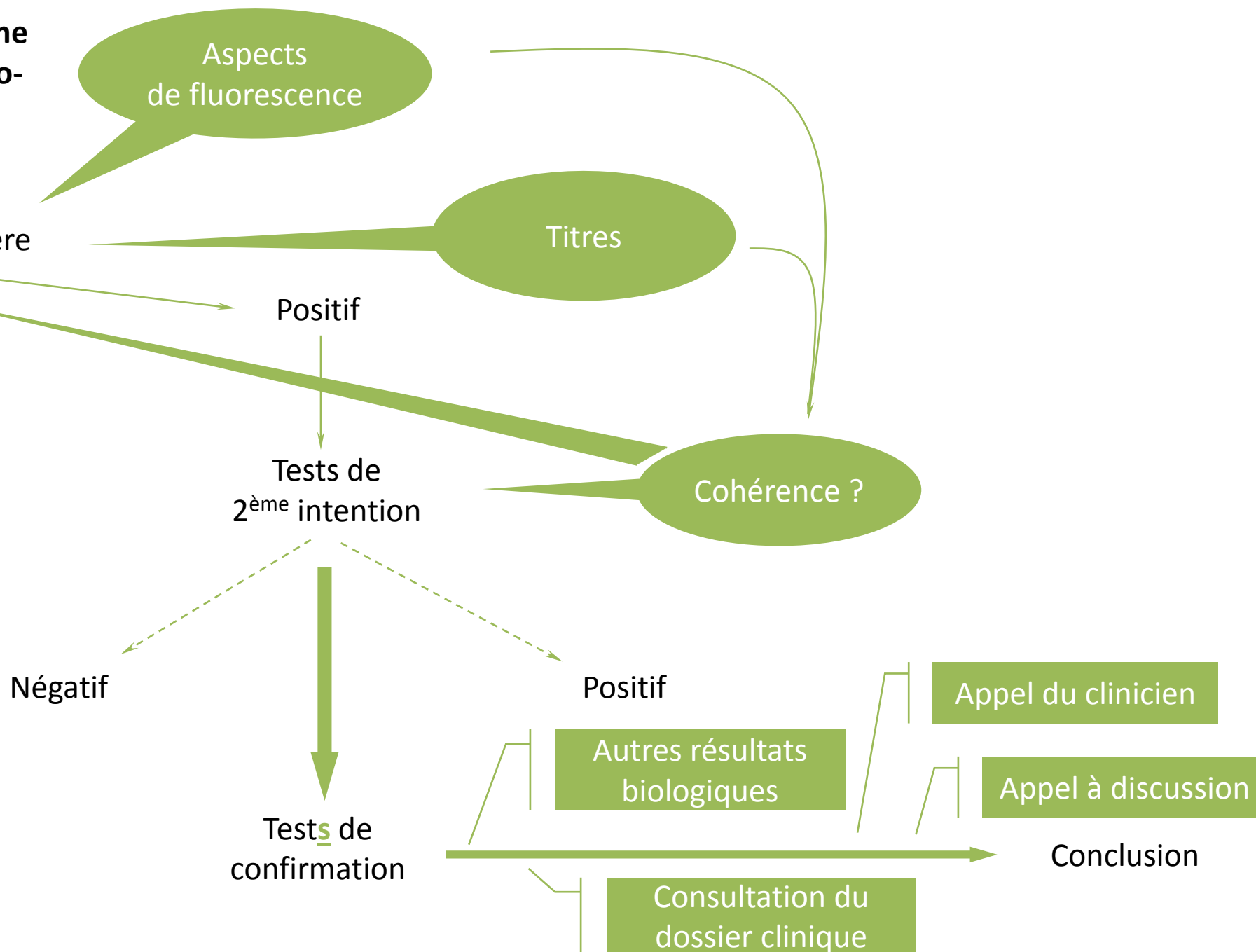
Appel du clinicien

Autres résultats
biologiques

Appel à discussion

Consultation du
dossier clinique

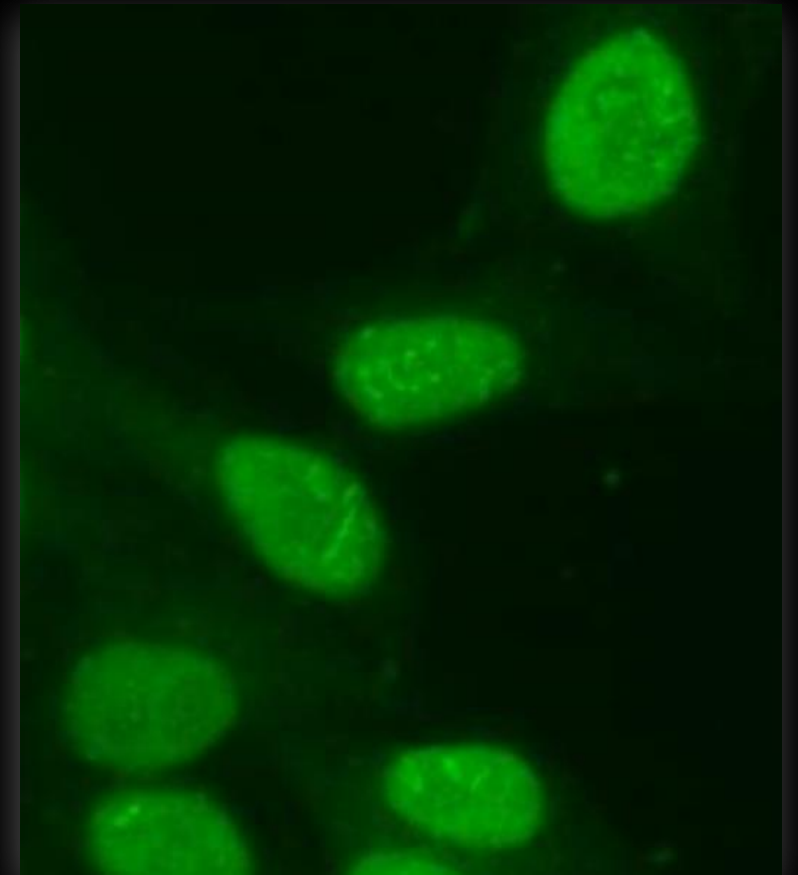
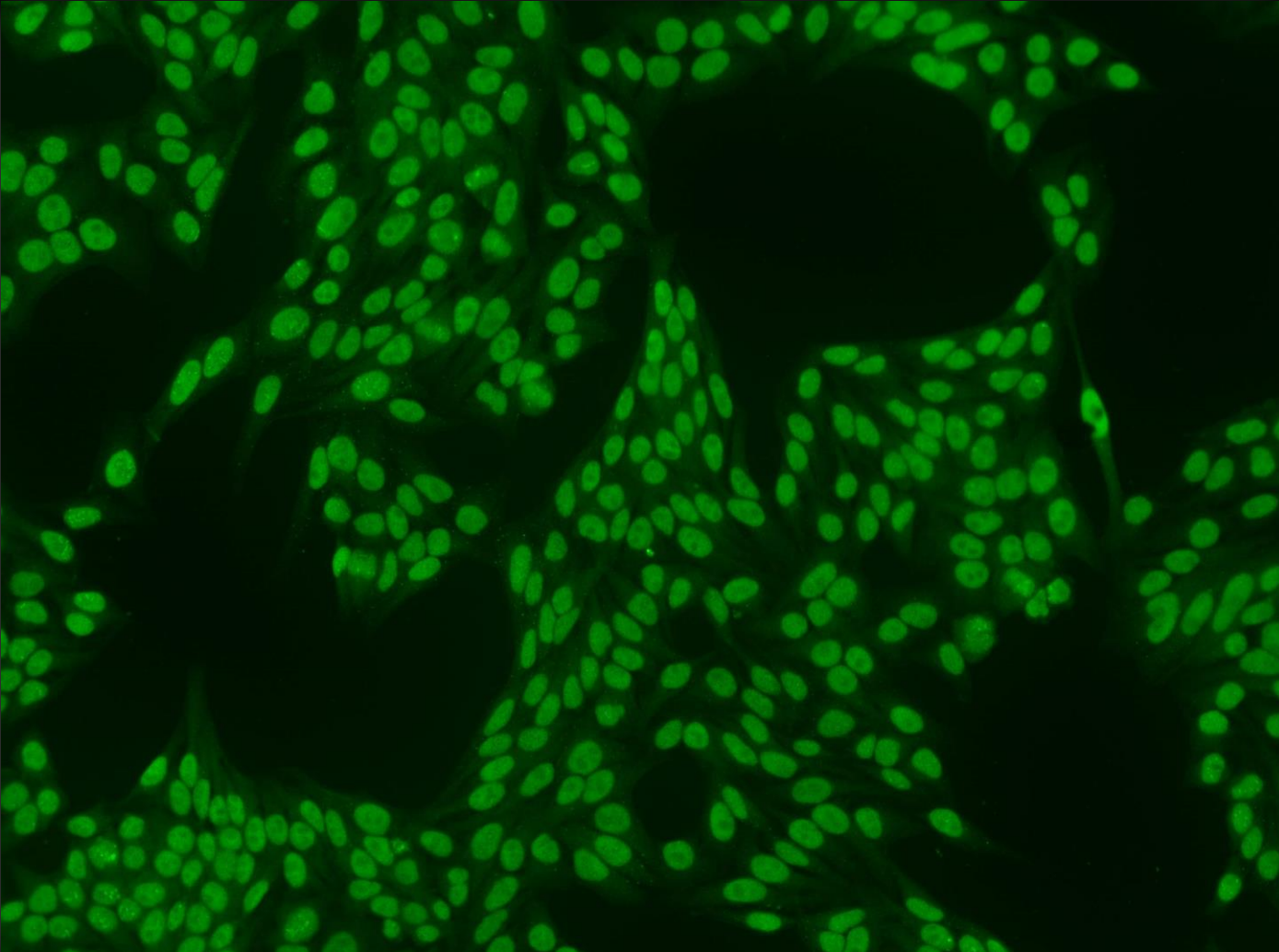
Conclusion



Quelques exemples

Monsieur G. Alexandre, 63 ans

Recherche d'Ac anti-nucléaires (ANA) sur cellules HEp2



- Fluorescence nucléaire 320^{ème},
- aspect Homogène /Mouch – nucléoles mouchetés
- Cellules en mitoses : négatives (?)

Monsieur G. Alexandre, 63 ans

Sclérodermie systémique diffuse diagnostiquée en 2014

Recherche d'Ac anti-nucléaires (ANA) sur cellules HEp2

- Fluorescence nucléaire 320^{ème},
- aspect Homo/moucheté – nucléoles mouchetés

Méthode d'identification des spécificités d'ANA (Antigènes nucléaires solubles et anti-ADN double brin)

	Valeur	Valeur seuil
dsDNA	1	10
SS-A/RO 52	0,2	1
SS-A 60	0,2	1
SS-B	2,3	1
Sm/RNP	0,2	1
SCL70	7,8	1
JO1	0,2	1
CENTRO	0,2	1

Méthode d'immunodot : Ac anti-Scl-70
Absence d'Ac anti- SS-B

Conclusion rendue :

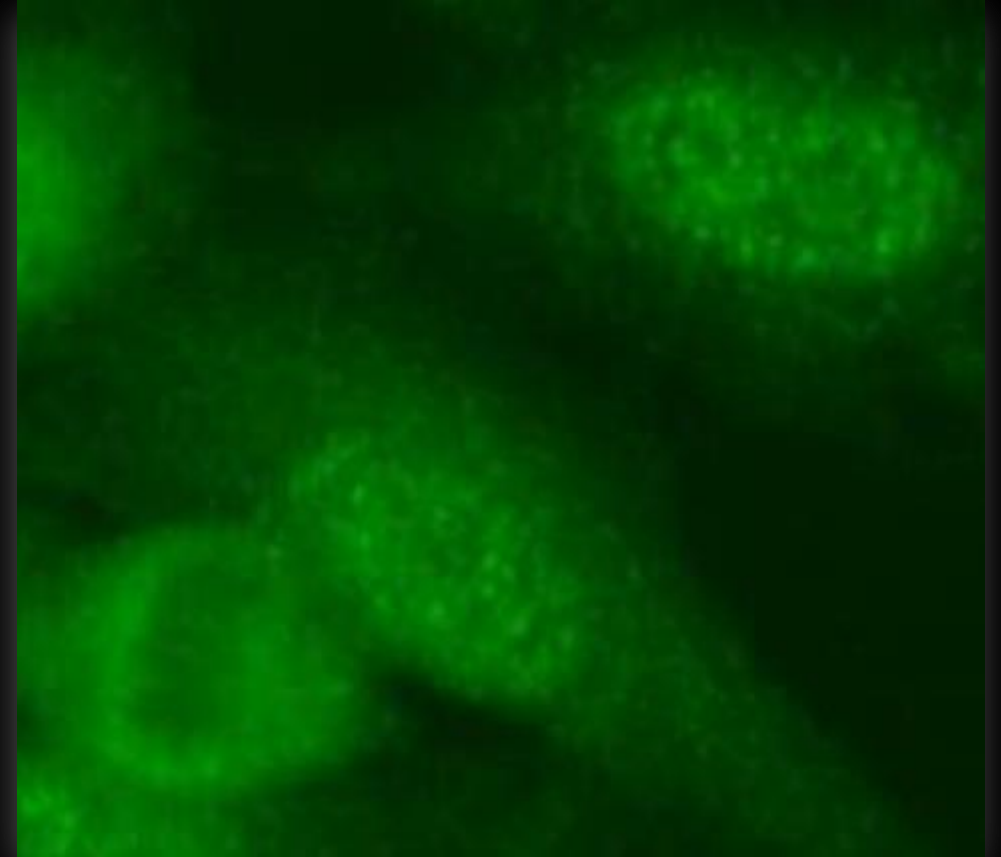
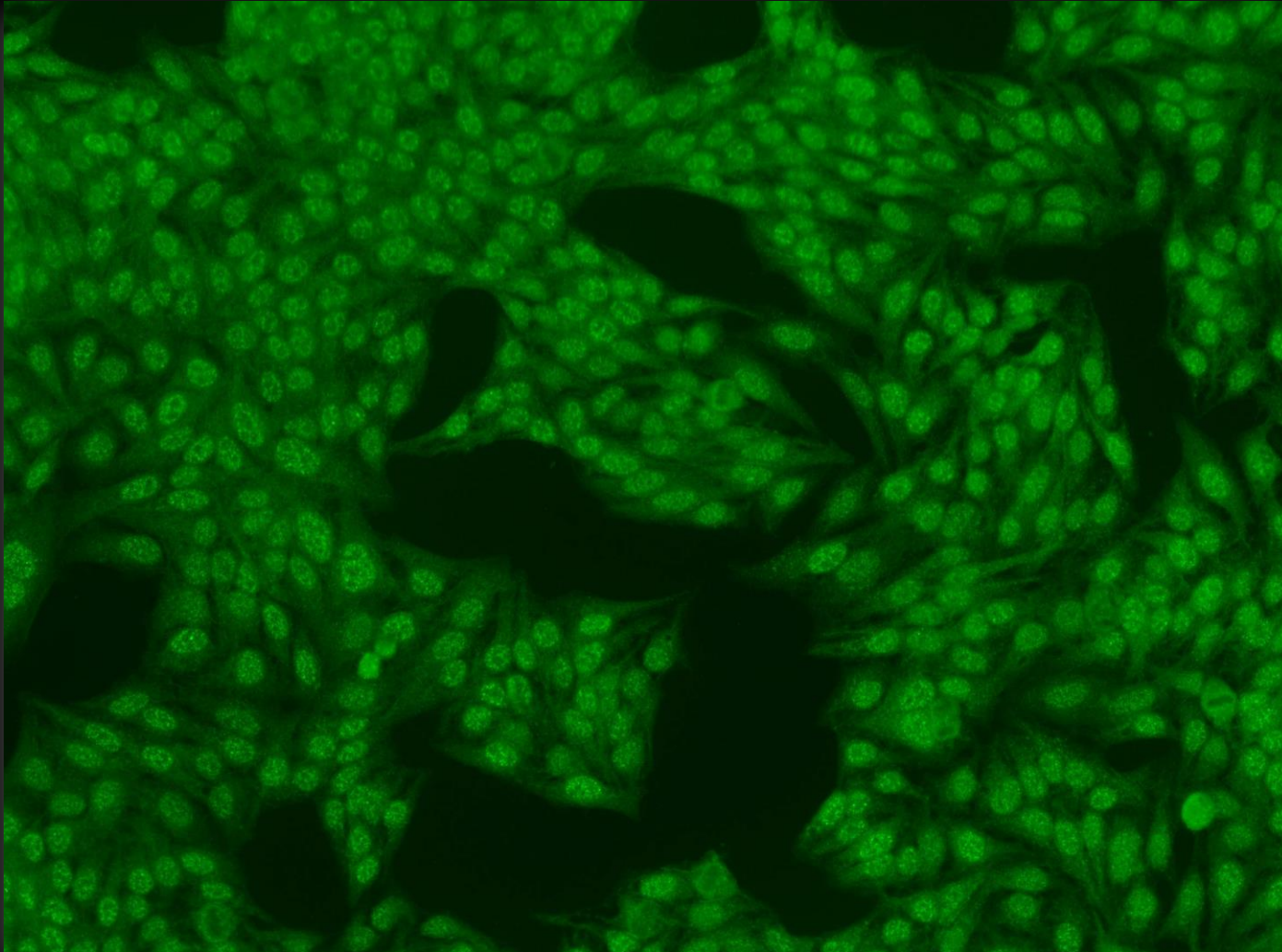
Présence d'anticorps anti Scl70.

Persistance d'une réactivité en anti SS-B, dont la signification clinique reste à préciser (faux positif ? émergence d'une réactivité anti SS-A et SS-B ?).

À contrôler à distance.

Monsieur D. Jean Marc, 55 ans

Recherche d'Ac anti-nucléaires (ANA) sur cellules HEp2



- Fluorescence nucléaire 640^{ème}
- Aspect moucheté
- Cellules en mitoses : négatives
- 80^{ème} : fluorescence cytoplasmique

Monsieur D. Jean Marc, 55 ans

Recherche d'Ac anti-nucléaires (ANA) sur cellules HEp2

- aspect moucheté, 640^{ème}
- Cellules en mitoses : négatives
- 80^{ème} : fluorescence cytoplasmique

Méthode d'identification des spécificités d'ANA (Antigènes nucléaires solubles et anti-ADN double brin)

	Valeur	Valeur seuil
dsDNA	1	10
SS-A/RO 52	0,3	1
SS-A 60	8	1
SS-B	0,8	1
Sm	0,2	1
Sm/RNP	0,2	1
RNPA	3,1	1
RNP68	0,2	1
SCL70	0,2	1
JO1	0,2	1
CENTRO	0,2	1

Syndrome primaire de Sjögren

Méthode d'immunodot : Ac anti-SS-A
Absence d'Ac anti-RNP (Sm)

Conclusion rendue :

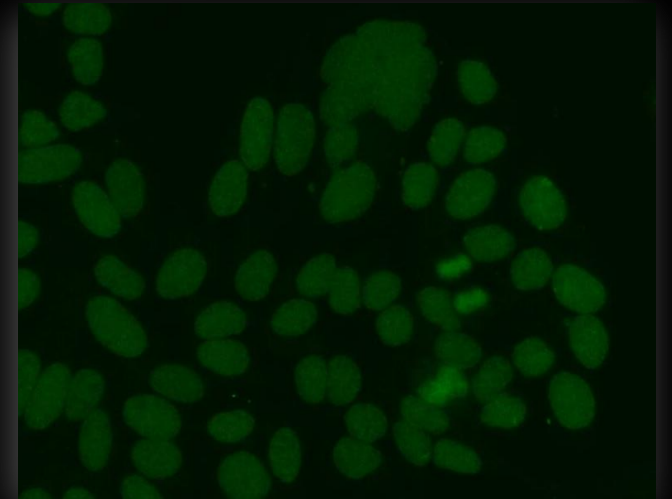
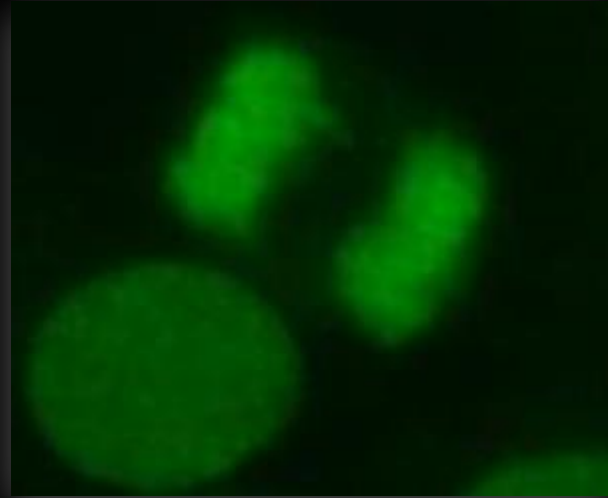
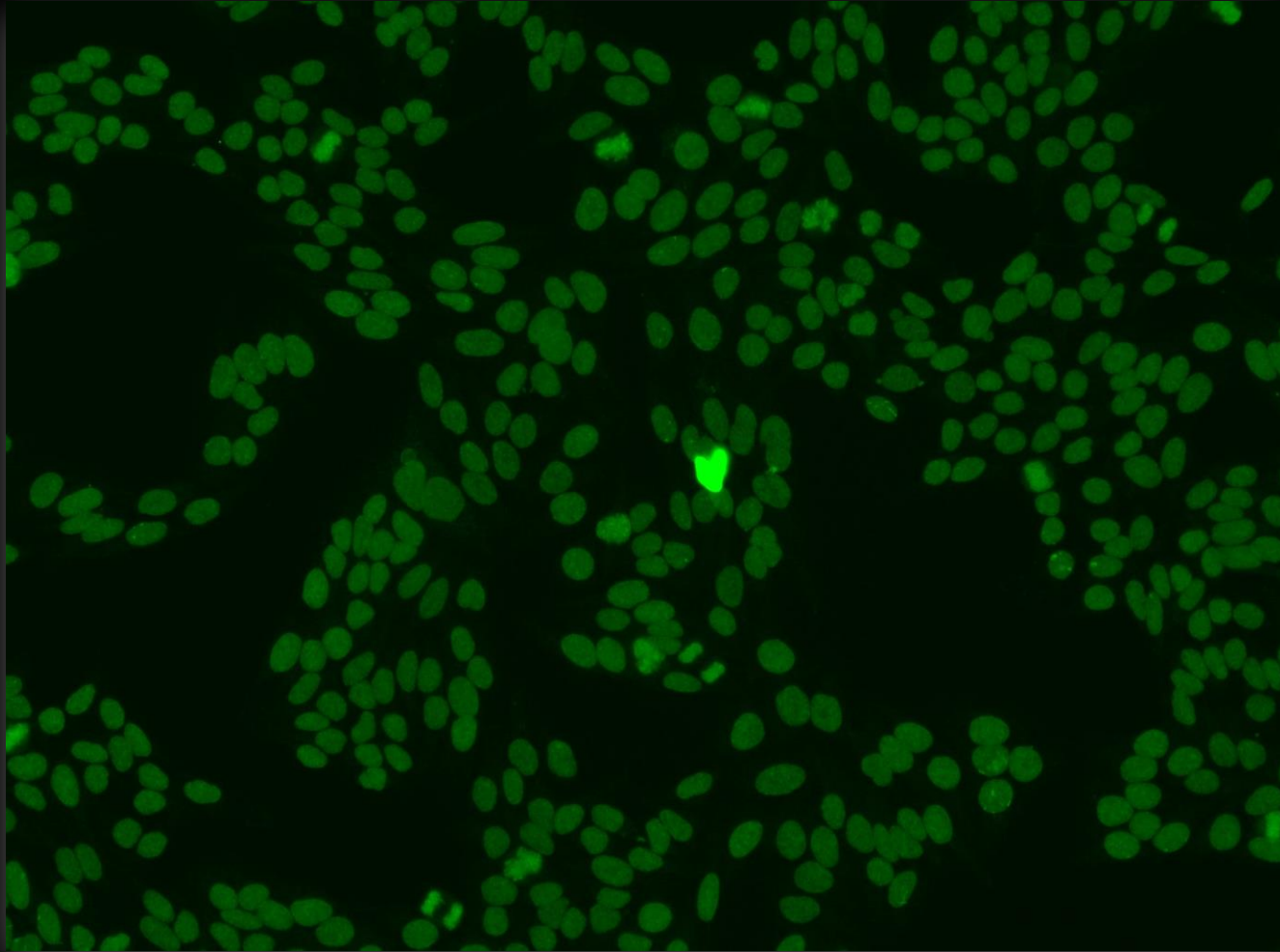
Présence d'anticorps anti SS-A.

Présence d'une réactivité Ac dirigée contre la seule sous-unité A du complexe RNP, « insuffisante » pour conclure à la présence d'anticorps anti-RNP. Ce résultat est jugé non spécifique.

Absence d'Ac anti-ADNdb

Madame C. Isabelle, 39 ans

Recherche d'Ac anti-nucléaires (ANA) sur cellules HEp2



- Fluorescence nucléaire 640^{ème}
- Aspect homogène
- Cellules en mitoses : positives

Madame C. Isabelle, 39 ans

Recherche d'Ac anti-nucléaires (ANA) sur cellules HEp2

- aspect homogène, 640^{ème}
- Cellules en mitoses : positives

Maladie de Crohn, sous anti-TNF

Méthode d'identification des spécificités d'ANA (Antigènes nucléaires solubles et anti-ADN double brin)

	Valeur	Valeur seuil
dsDNA	45	10
SS-A/RO 52	0,3	1
SS-A 60	0,2	1
SS-B	0,8	1
Sm	0,2	1
Sm/RNP	0,2	1
RNPA	0,2	1
RNP68	0,2	1
SCL70	4,8	1
JO1	0,2	1
CENTRO	0,2	1

Méthode d'immunodot : négative

Conclusion rendue :

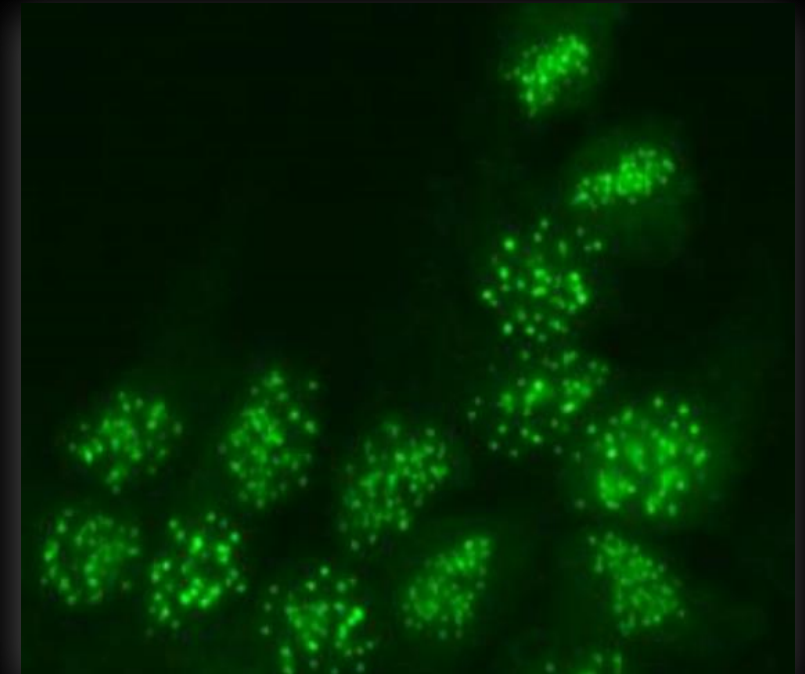
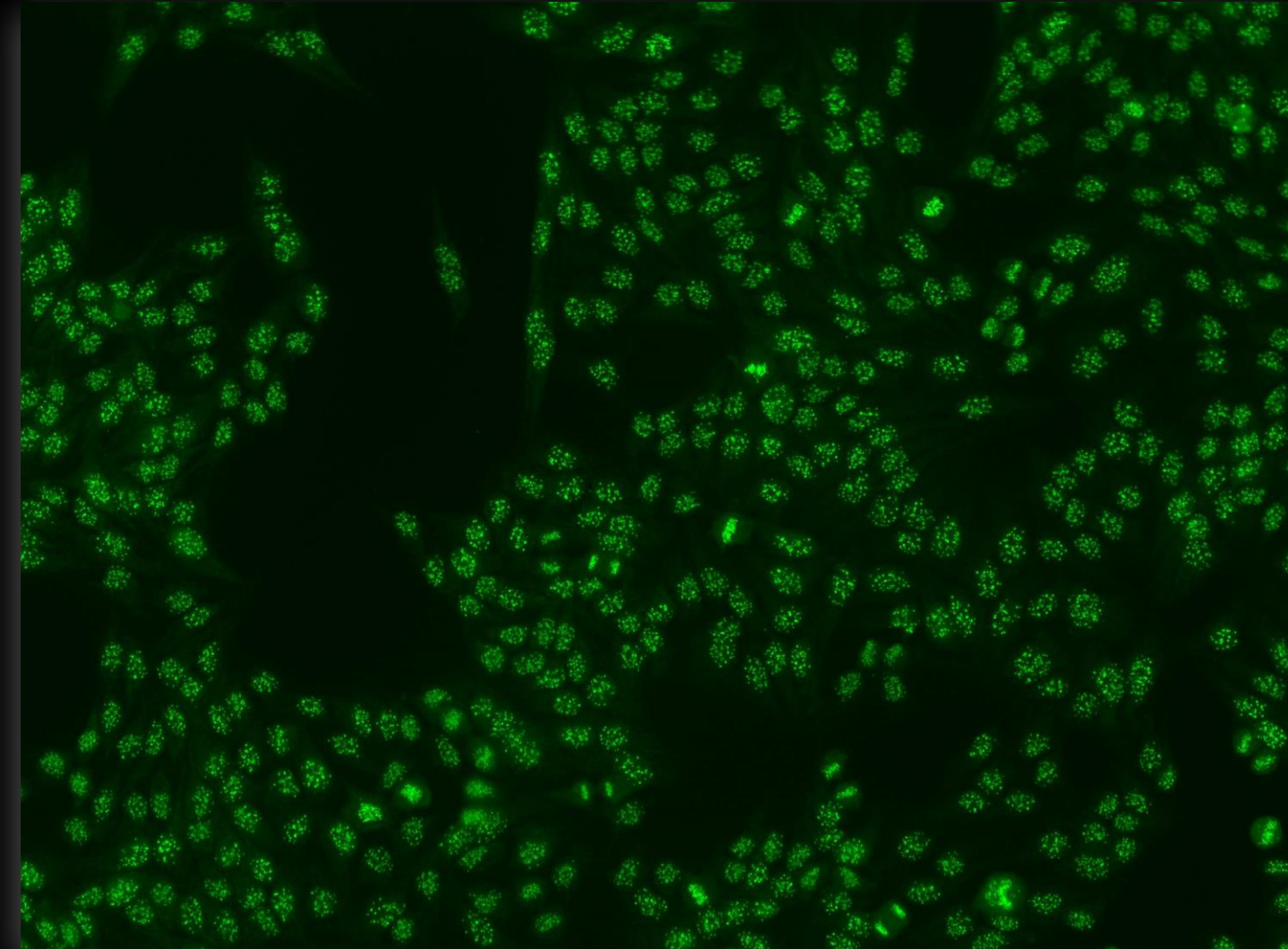
Présence d'une réactivité en anti-Scl70 non confirmée par l'aspect de fluorescence ni par immunodot.

Il s'agit vraisemblablement d'une interférence.

Présence d'anticorps anti-ADN natif. En raison du traitement anti-TNF, le test de FARR n'a pas été réalisé.

Madame R. Isabelle, 53 ans

Recherche d'Ac anti-nucléaires (ANA) sur cellules HEp2



- Fluorescence centromérique 2560^{ème}

Madame R. Isabelle, 53 ans

Recherche d'Ac anti-nucléaires (ANA) sur cellules HEp2

- aspect moucheté
- Cellules en mitoses : négatives
- 80^{ème} : fluorescence cytoplasmique

Diagnostic connu : Sclérodermie systémique limitée

Méthode d'identification des spécificités d'ANA (Antigènes nucléaires solubles et anti-ADN double brin)

	Valeur	Valeur seuil
dsDNA	50	10
SS-A/RO 52	0,9	1
SS-A 60	8	1
SS-B	0,2	1
Sm	0,2	1
Sm/RNP	1,2	1
RNPA	0,2	1
RNP68	0,2	1
SCL70	0,2	1
JO1	0,2	1
CENTRO	8	1

Test de Farr : 0,3 UI/mL

Conclusion rendue :

Présence d'anticorps anti centromères.

Absence d'Ac anti-ADNdb

Identification des auto-anticorps au CHRU de LILLE

1^{er} Janvier au 31 mai 2016 :

1 139 recherches d'Ac anti- nucléaires solubles

1 181 recherches d'Ac anti-ADNdb

Spécificité	Nombre de positifs	Positifs isolés (%)
SS-B	75	18 (40)
RNP A	114	29 (25)
Scl-70	40	16 (40)
DNAdb	92	11 (12) 7 comprises [10 -20] 1 seule à 5 x le seuil

586 « Farr » / 282 dosages sans anti-dsDNA par méthode non isotopique

Que les anti-nucléaires ?

Monsieur S Michael, 17 ans (origine sud-asiatique)

Hospitalisé en pneumologie le 08/07/2015 pour un 1^{er} bilan d'un asthme « difficile »

– Symptomatologie compatible avec un asthme depuis environ 2 ans, sans origine allergique.

Initialement, asthme plutôt bien contrôlé sous SYMBICORT.

– Évolution actuelle: épisodes d'exacerbations régulières sur surinfections bronchiques justifiant 1/mois, une antibio- corticothérapie.

– Parallèlement mise en évidence, à plusieurs reprises, d'une éosinophilie circulante, jusqu'à un maximum de 2 500 /mm³.

• Autres ATCD :

– Polypose naso-sinusienne.

– Pas d'allergie connue.

• Mode de vie :

– Vit dans une maison de 1940, qui a été rénovée il y a 1 an

– Pas d'exposition particulière

• Traitement actuel :

- ✓ SYMBICORT : 400 Pg, 2 bouffées matin et soir
- ✓ RHINOCORT : 1 pulvérisation x 2 /jour dans chaque narine
- ✓ Aérosols de TERBUTALINE : 3 /jour depuis 1 mois
- ✓ OXEOL
- ✓ SINGULAIR
- ✓ BRICANYL : si gêne respiratoire

État général bon / IMC=19,5

Auscultation : sibilants diffus

Pas d'atteinte clinique

- Neurologique
- Cardiaque
- Rénale

Bilan paraclinique

- **Éosinophilie à 2 300 /mm³**

- IgE totales = 106 kU/l (!)
- Tryptase à 3,5 µg/l
- Tests cutanés vis-à-vis :
 - Trophallergènes standards = négatifs.
 - Aspergillus = négatif.
 - Viandes et farines = négatifs.

- Rast aspergillaire = négatif
- Sérodiagnostic aspergillaire = négatif
- ECBC = mycologique, non contributif
- Sérodiagnostics des parasitoses autochtones et des parasites retrouvés en Chine = négatifs.
- Examen parasitologique des selles = négatif.

- « Test à la sueur » douteux = 55 mEq/l (Recherche de mutation du gène CFTR : mis en évidence à l'état hétérozygote d'une variation de séquence p.Ile125Thr sans autre mutation associée, avec un effet à priori peu ou pas délétère)
- Clairance de l'alpha antitrypsine : normale

- Immunophénotypage lymphocytaire : absence d'argument en faveur d'un syndrome hyperéosinophilique lymphoïde.
- Absence de transcrit FIP1-L1 (*retrouvé chez une proportion importante de patients présentant un syndrome **myéloprolifératif** atypique avec hyperéosinophilie*)

- TDM des sinus = épaississement en cadre « polypoïde » de l'ensemble des sinus de la face.
- EMG : pas de signe de neuropathie multiple

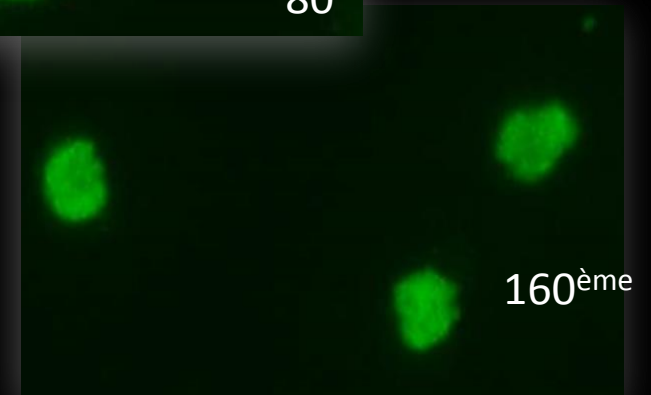
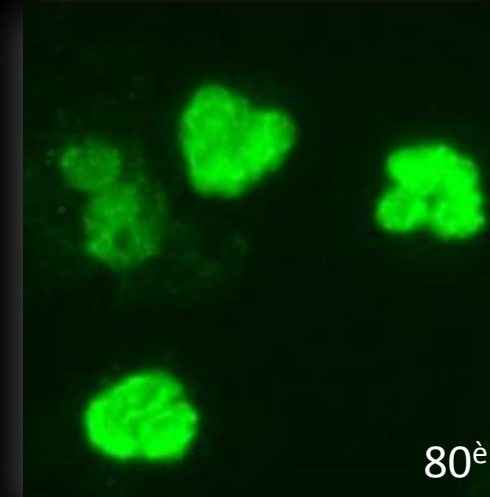
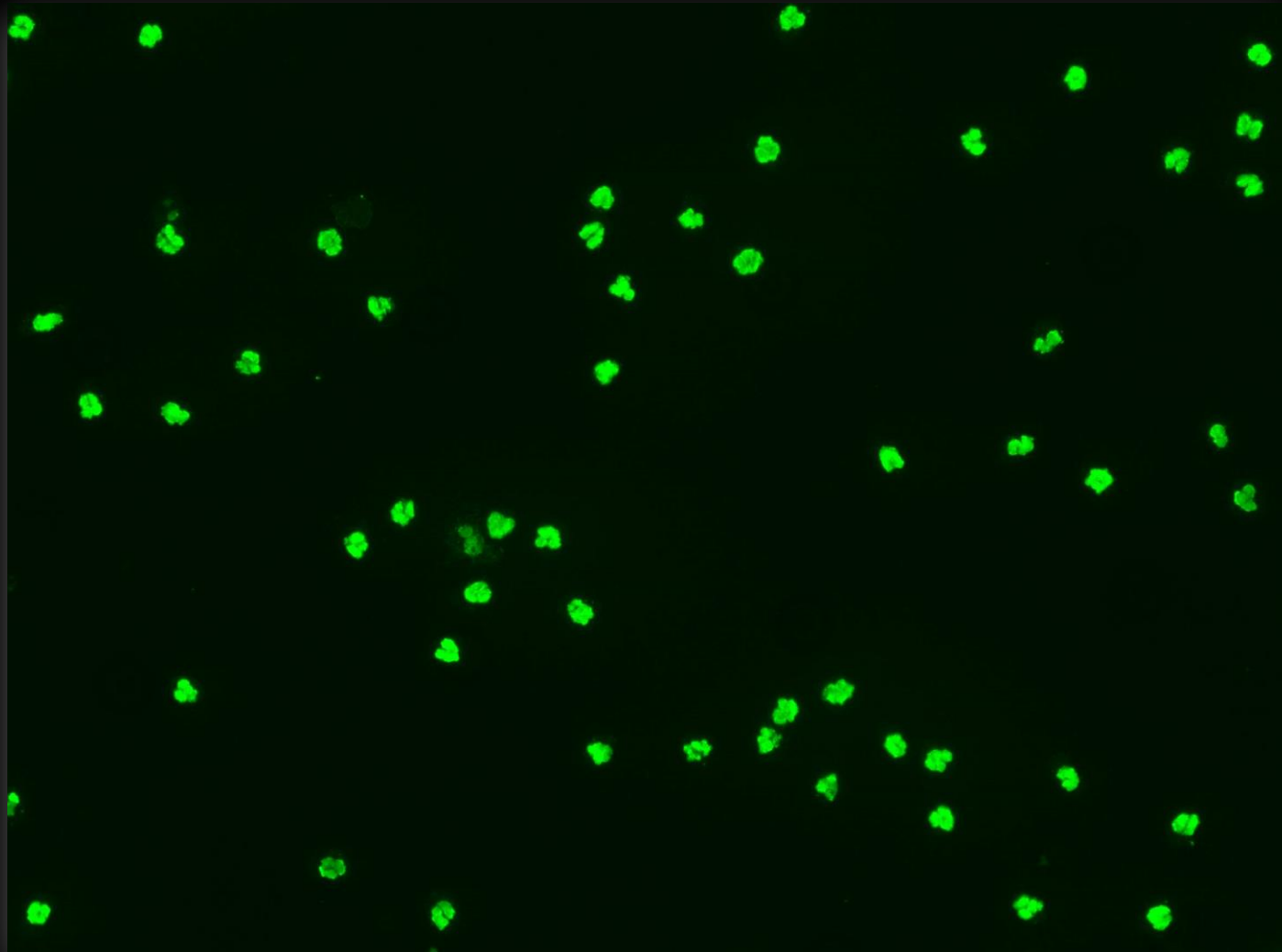
Pas d'atteinte biologique

- Neuromusculaire
- Cardiaque
- Rénale

Pas d'exploration du syndrome inflammatoire (pas de CRP !)

Monsieur S. Michael, 17 ans

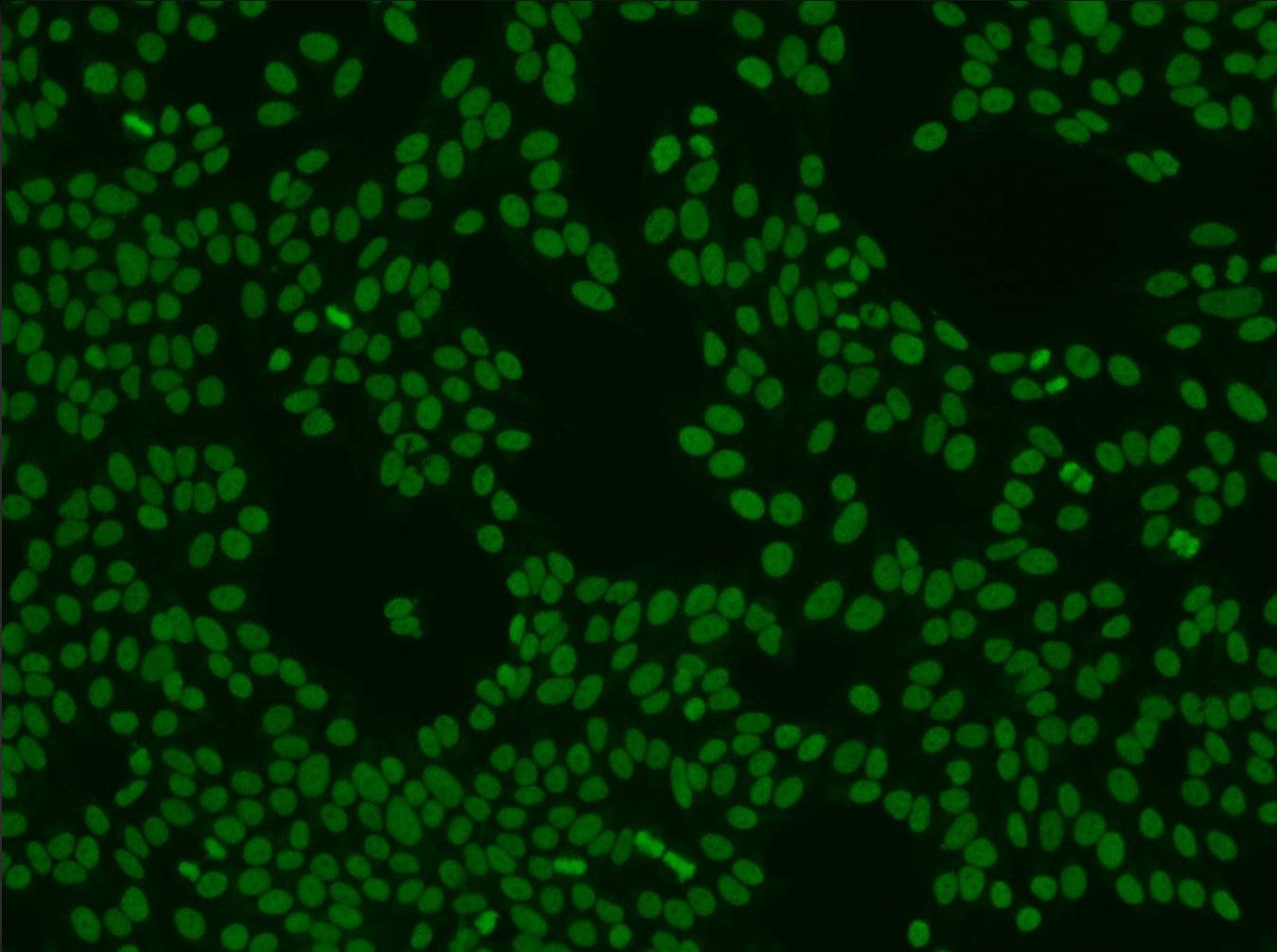
Recherche d'Ac anticytoplasme des polynucléaires neutrophiles (lames « éthanol »)



- Fluorescence périnucléaire et nucléaire
homogène 160^{ème} (P-ANCA)

Monsieur S. Michael, 17 ans

Recherche d'Ac anti-nucléaires (lames HEp2)



- Fluorescence nucléaire homogène 320^{ème}

Date du dosage	08/07/2015	30/07/2015	Seuil
Test			
IFI	Fluorescence périnucléaire et nucléaire homogène, 160ème	Fluorescence périnucléaire et nucléaire homogène 160ème	
Anti-MPO ⁽¹⁾	1,1	1,3	1 UA/mL
Anti-PR3 ⁽¹⁾	<0,2	<0,2	1 UA/mL

Conclusion des Pneumologues : C'est un Churg et Strauss !

(1) Fluorimétrie en flux

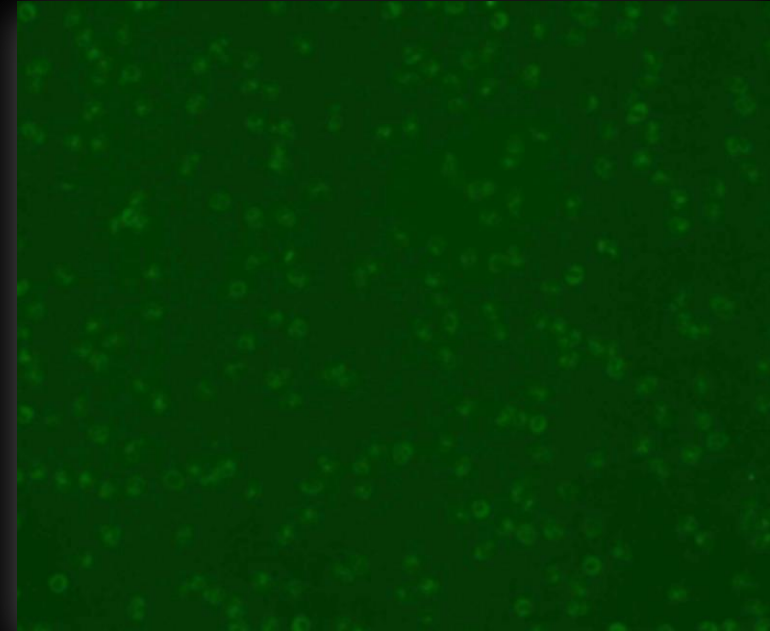
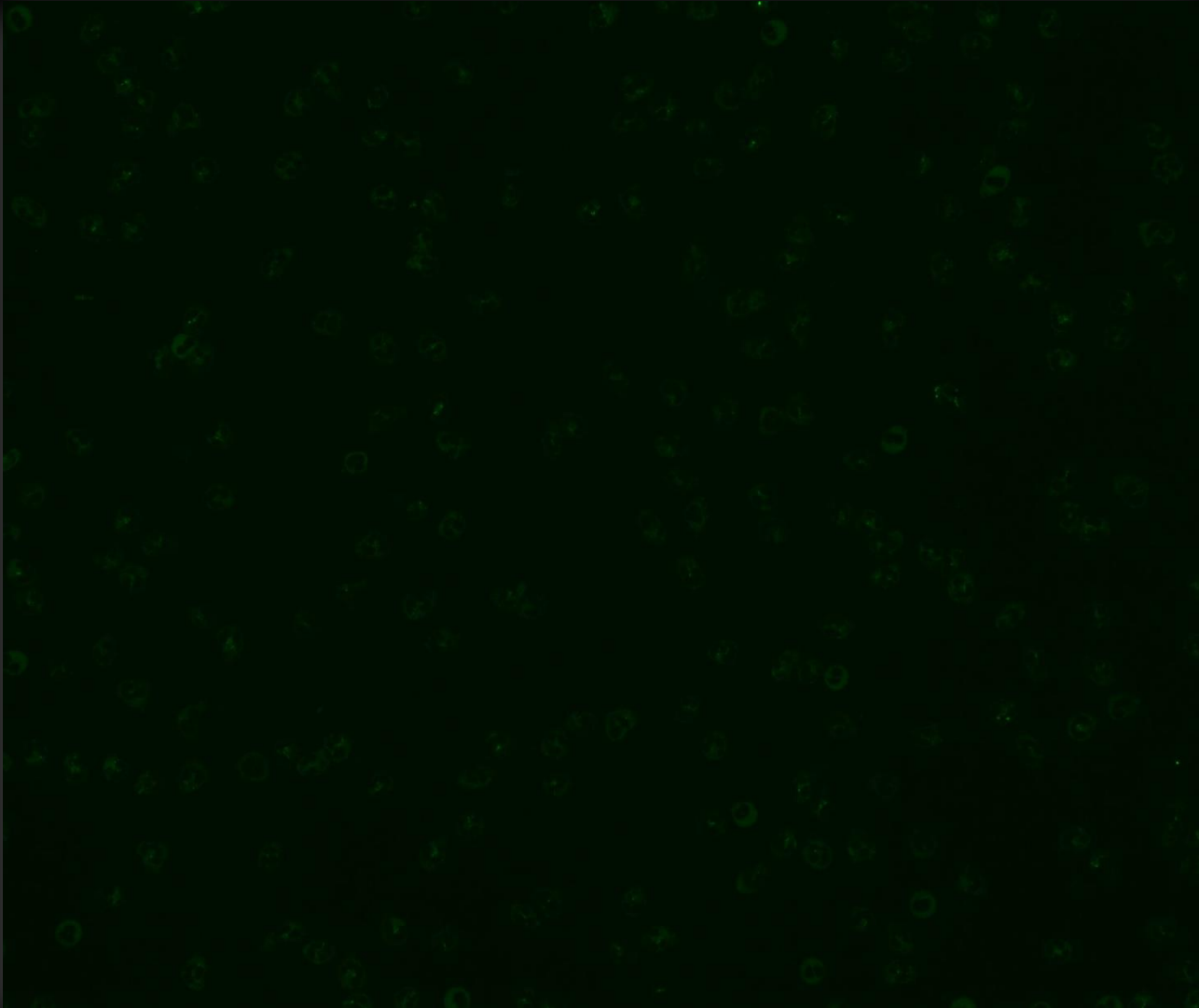
(2) EIA « classique »

Conclusion des biologistes : « prudence »

Les « + »	Les « - »
	Âge ($\pm$)
Asthme sévère	Relativement récent
	Pas de symptômes extra pulmonaires
IgE « indépendant »	
Éosinophilie	
P-ANCA 1/160	Absence ou titre faible d'ANCA-MPO

Monsieur S. Michael, 17 ans

Recherche d'Ac anticytoplasme des polynucléaires neutrophiles (lames « formol »)



CRP : sur le prélèvement de juillet 2015
négative (valeur ??)

Take Home Messages

1) Chercher la cohérence entre les tests de 1^{ère} et 2^{ème} intention

En l'absence de cohérence ,

- 1) Mettre en place un (voire des) test(s) de confirmation,
- 2) Chercher des arguments qui vont guider l'interprétation finale par la consultation d'autres résultats biologiques
(biochimie, hémato, microbio)
- 3) Appeler le clinicien
- 4) Inviter le clinicien à vous contacter

2) Quand on rédige la conclusion finale

- En l'absence d'informations cliniques précises : **se garder d'associer des commentaires du type**
 - « ces résultats sont en faveur de telle ou telle maladie » quand les résultats d'une exploration sont **positifs**.
 - « ces résultats ne sont pas en faveur de « telle » maladie » quand les résultats d'une exploration sont **négatifs**

Se contenter d'un résultat tranché précisant la présence (ou l'absence) d'Ac, et citer précisément le(s)quel(s) a (ont) été recherché(s).

3) Espérer que cette conclusion soit lue 😊



On en discute lors de la « table ronde »...

Remerciements

Mesdames Laure JANIAK, Hélène DELEVOYE, Justine DUTRY technicienne (images IFI)

Mademoiselle Audrey HUK (Dossier Clinique ANCA)

Monsieur le Dr François LOISELEUR (Biologiste, Biochimiste)