

Évaluation de la vraisemblance d'un résultat d'un test de diagnostic biologique de maladies autoimmunes

Sylvain Dubucquoi^a

1. Introduction

Au concept de vraisemblance, on relie intuitivement ce qui « semble vrai ».

À cette définition simple s'associent néanmoins deux notions importantes: une valeur d'exactitude mais aussi une notion d'estimation et de subjectivité. Les résultats exprimés dans le domaine de la biologie médicale se prêtent assez bien à cette question. Quand le biologiste valide le résultat d'un dosage biologique, il évoque plus ou moins consciemment sa « vraisemblance », c'est-à-dire qu'il tente de projeter la valeur mesurée dans le contexte clinique qui a justifié la prescription, (sachant qu'il en est souvent peu informé) afin d'en estimer l'intérêt. Il y a bien une part d'incertitude dans cette démarche.

Il est possible de calculer la valeur prédictive positive (VPP) ou négative (VPN) d'un test, voire d'apprécier ses rapports de vraisemblance ou *likelihood ratio* (LR). Ses mesures font toutefois appel à de savants calculs impliquant les sensibilité, spécificité de la méthode mise en œuvre, la prévalence de la maladie (pour les VPP et VPN) ou la probabilité prétest (pour les LR) [1]. Données dont on ne dispose pas toujours au moment même où l'on valide un résultat particulier.

Il est proposé de discuter ici de quelques éléments qui permettent de juger plus directement de la vraisemblance d'un résultat biologique dans le domaine de l'auto-immunité, voire de la renforcer, sans pour autant disposer de données épidémiologiques ou statistiques complexes. La démarche décrite se basera sur quelques exemples pris du quotidien. Elle est subjective, basée sur un vécu personnel et méritera d'être discutée en séance plénière pour être confrontée à d'autres expériences. Elle fait aussi appel au bon sens et à certaines spécificités qui ne sont rencontrées que dans le domaine de l'immunologie.

^a Institut d'Immunologie

Centre de Biologie-Pathologie Génétique Médicale
Bd du Professeur Jules Leclercq
CHRU de Lille
59037 Lille CEDEX

* Correspondance

sylvain.dubucquoi@chru-lille.fr

2. Dimension semi-quantitative des résultats

Le diagnostic biologique en auto immunité repose sur l'interprétation de différents actes ou « tests biologiques » proposés selon une hiérarchie bien définie. La démarche fait appel à des tests de dépistage, sensibles mais souvent peu spécifiques, qui permettent en cas de résultats négatifs de stopper les explorations dans la plupart des cas. C'est l'exemple de la recherche des anticorps anti-nucléaires (AAN), avec le dépistage en immunofluorescence sur cellules HEp-2. En revanche, si les résultats des tests de première intention sont positifs, la démarche est complétée par des tests de « seconde intention » de plus en plus ciblés, et qui aident à l'interprétation finale du bilan biologique.

Une difficulté inhérente au diagnostic biologique des maladies auto-immunes tient à la fiabilité relative des résultats générés par les tests mis en œuvre. Chaque examen biologique réalisé dans ce cadre précis présente un risque de résultats « faussement positifs » mais aussi de résultats « faussement négatifs ». Cette modeste fiabilité tient au fait même des principes méthodologiques des tests biologiques à disposition en auto-immunité : labilité de l'interaction antigène/anticorps ; réactivités croisées ; absence de méthode de référence et de standardisation inter essais...

Il est de la responsabilité du biologiste médical de connaître les limites de ces tests. Cette connaissance se base sur l'évaluation des méthodes qu'il a pu mener lorsqu'il a choisi le principe de dosage et les coffrets de réactifs. Elle repose en partie sur la mesure de la sensibilité et de la spécificité des tests mis en œuvre. Elle s'enrichit toutefois de l'expérience quotidienne qui permet de recenser les circonstances au cours desquelles la méthode aurait pu être mise en défaut.

Il faut convenir par ailleurs que si l'estimation que l'on peut faire d'un test est généralement fiable à l'échelle d'une large cohorte de résultats (ou patients), transposer cette estimation à un résultat particulier (celui en cours d'interprétation) reste difficile en pratique quotidienne, du fait du manque des informations cliniques qui ont motivé la prescription.

Pour contourner cette difficulté, le biologiste met en œuvre certains principes d'interprétation. Ainsi, la validation du bilan biologique d'auto-immunité se déroule en 2 étapes.

2.1. Validation de la phase technique

Chaque série de tests associe la réalisation systématique de contrôles de qualité internes dont les résultats permettent de s'assurer de la fiabilité du geste technique et de la bonne qualité des réactifs utilisés. Cette réalisation est sous la responsabilité du technicien de laboratoire. Ce n'est qu'une fois cette démarche effectuée, contrôlée, validée et tracée par le biologiste responsable, qu'il devient alors aisé d'évoquer, face à un résultat anormal, que le patient présente réellement une anomalie biologique. On perçoit donc que le bon déroulement de cette première étape est un élément important de l'estimation de la vraisemblance d'un résultat. Le choix judicieux des contrôles de qualité, dans toute la gamme, ou plus ciblés sur la valeur seuil, peut permettre d'ailleurs d'éviter de contrôler les résultats pathologiques de manière systématique.

2.2. Validation des résultats d'exploration pour chaque patient

Cette démarche est, on le rappelle exclusivement sous la responsabilité du biologiste, seul compétent pour apporter une interprétation et rechercher des éléments cliniques (entre autres), étayant son interprétation.

Dans cette démarche, une notion importante qu'il faut garder à l'esprit est que l'interprétation, c'est-à-dire l'estimation de la vraisemblance du résultat d'un test en auto-immunité, se base plus sur **une évaluation semi quantitative** que sur l'évaluation stricte de la valeur chiffrée par rapport à un seuil. Ainsi, du fait même des limites des tests évoquées plus haut, le résultat d'un examen biologique d'auto-immunité sera traduit le plus souvent en « négatif », « faiblement positif » ; « positif » en fonction de l'intensité du signal mesuré, qu'elle soit chiffrée quantitativement ou non. Cette notion fait écho à ce qui a été proposé par le collège de rhumatologues de l'*American College (ACR)* et de l'*European League Against Rheumatism (EULAR)* en 2010, pour l'interprétation des résultats de dosages de facteurs rhumatoïdes et d'anticorps anti-peptides cycliques et citrullinés (CCP), associant un score plus ou moins élevé (en faveur de la polyarthrite rhumatoïde), selon que les résultats de ces dosages étaient négatifs, faiblement et franchement positifs (plus de 3 fois la valeur du seuil d'interprétation) [2]. Elle fait également référence aux coefficients de variation souvent élevés des méthodes de dosage que nous utilisons, c'est-à-dire souvent plus proches de 15-20 % que de 5 %, associés aux méthodes plus précises.

Un corollaire mérite d'être précisé. **De façon générale, les résultats négatifs et faiblement positifs ne sont pas évocateurs du diagnostic d'une maladie à sa phase de découverte clinique.** En phase diagnostique, chez un malade non traité et non immunodéprimé, un test biologique rendra des résultats franchement positifs (c'est-à-dire largement au-dessus du seuil d'interprétation). On pourrait argumenter que la biologie peut précéder les manifestations cliniques et imaginer que des taux faibles traduisent une pathologie à son tout début. C'est vrai, mais il faut alors se souvenir que hormis quelques exceptions (les vascularites par exemple), le diagnostic de maladie auto-immune n'est généralement pas un diagnostic d'urgence. Aujourd'hui encore le clinicien ne traite pas un résultat

biologique, il traite une maladie symptomatique. Il peut être alors nécessaire de relativiser la portée des résultats biologiques. Confondre des résultats faiblement positifs et négatifs, alors même qu'il y aurait un véritable contexte de maladie au début de son évolution, n'est donc pas une perte de chance pour le malade. L'histoire clinique qui se précisera amènera le prescripteur à renouveler les explorations, au besoin.

En revanche, de **nombreuses interférences peuvent être à l'origine de résultats faiblement positifs donc des faux positifs analytiques.** Alerter à tort un clinicien par des résultats erronés conduit à altérer la confiance qu'il accorde aux paramètres biologiques. On se gardera alors d'associer les commentaires du type « *ces résultats sont en faveur de telle ou telle maladie* » quand les résultats d'une exploration sont positifs. Plus encore, des résultats négatifs ou faiblement positifs peuvent également être rencontrés alors que la maladie a déjà été découverte et que le patient est sous traitement. On se gardera encore de commentaires du type « *ces résultats ne sont pas en faveur de "telle" maladie* ». **En l'absence d'informations cliniques précises, on se contentera d'un résultat tranché précisant la présence ou l'absence d'Ac, et on citera précisément le(s)quel(s) a (ont) été recherché(s).**

3. Rechercher la cohérence

Complétant cette première démarche, on rappellera qu'**au sein du bilan biologique d'auto-immunité, le résultat de chaque test mis en œuvre doit être interprété en fonction des résultats des autres examens biologiques et des antécédents à disposition du laboratoire.** Cette démarche vise à rechercher la cohérence de l'ensemble des résultats pour renforcer la valeur intrinsèque de chacun d'entre eux. En l'absence de cohérence, un contact avec le prescripteur est nécessairement envisagé quand l'expérience du biologiste ne permet pas de trancher au moment de l'étape finale de validation. Cette démarche est là encore, de la responsabilité du seul biologiste.

L'exemple des Ac anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles (ANCA) recherchés dans le cadre des vascularites se prêter bien là encore à l'illustration de cette démarche [3].

La recherche des ANCA passe par un test d'immunofluorescence indirecte sur polynucléaires neutrophiles fixés à l'éthanol. Le test est suffisamment sensible pour qu'un résultat négatif suffise à conclure à l'absence d'ANCA. Un résultat positif doit préciser et l'aspect de fluorescence et le titre. Quelles que soient ces données, tout résultat positif d'immunofluorescence sur polynucléaires neutrophiles fixés à l'éthanol sera suivi d'une recherche d'Ac anti-MPO et anti-PR3 par immunodosage (méthode immuno-enzymatique (EIA), par polarisation de fluorescence (FPIA), ou autre). Quels sont les éléments de cohérence à rechercher ?

1. La concordance des aspects de fluorescence P-ANCA et la présence d'ANCA-MPO ou de l'aspect C-ANCA et la présence de PR3-ANCA

2. Dans une moindre mesure, une cohérence des titres rendus par les méthodes en fluorescence et par les immunodosages.

En effet, hormis quelques circonstances exceptionnelles, la présence d'ANCA-MPO est associée à un aspect de fluorescence P-ANCA, et ANCA-PR3 à un aspect de fluorescence C-ANCA. **Mais l'inverse n'est pas vrai!** Dans notre pratique quotidienne, seuls 5 à 10 % des prescriptions sont associées à la présence d'ANCA-MPO ou PR3 (soient 20 à 40 % des aspects de fluorescence du test de dépistage).

Il faut pourtant retenir que, dans le cadre des vascularites, seule la conclusion «*présence d'Ac anti-MPO*» (ou *anti-PR3*) est utile au clinicien pour la prise en charge du patient quand les aspects de fluorescence et les immunodosages sont en accord.

En l'absence d'Ac anti-MPO (ou -PR3) révélé par immunodosage, une conclusion qui se limiterait à préciser la présence de P-ANCA (ou C-ANCA, respectivement) sur les seuls aspects fluorescence, peut être une source de confusion dans l'interprétation que fait le clinicien des résultats que nous lui rendons.

Dans ce cadre précis, le premier message à délivrer lors de l'interprétation finale est, selon nous : «**Absence d'ANCA MPO et PR3**». Il faut ensuite préciser s'il s'agit d'un «ANCA atypique» (A-ANCA ou x-ANCA) ou d'une interférence, si une fluorescence est observée lors de la réalisation du test de dépistage sur polynucléaires neutrophiles fixés à l'éthanol.

Nous seuls, biologistes, sommes à même de connaître les interférences (nombreuses!) qui s'associent à une fluorescence (périnucléaire le plus souvent) révélée par le dépistage sur lames fixées à l'éthanol.

On argumentera que des tests complémentaires peuvent aider à l'interprétation : recherche d'une fluorescence sur polynucléaires neutrophiles fixés par le formaldéhyde ; le méthanol ; recherche d'AAN sur cellules HEP-2 par exemple.

Sans nier leur utilité, on rappellera toutefois :

- que la recherche d'ANCA sur lames fixées au formol est moins sensible que sur lame fixée à l'éthanol. Un résultat négatif sur lame formolée, alors qu'un aspect de fluorescence P-ANCA est observé sur lames fixées à l'éthanol, ne doit pas dispenser de rechercher les ANCA par immunodosage. À l'inverse, en l'absence d'ANCA-MPO révélé par immunodosage, l'absence de fluorescence cytoplasmique sur lame formolée alors qu'est observé un aspect P-ANCA sur lame fixée à l'éthanol, permet de conclure à l'absence d'Ac dirigés contre une cible cytoplasmique des polynucléaires neutrophiles. Ce peut être utile en pratique courante.
- Que la recherche des AAN sur cellules HEP-2 ne se fait pas à la même dilution de dépistage que celle des ANCA : 80e pour la première, 20e pour la seconde. Des AAN à titre faible peuvent donc être révélés sur polynucléaires neutrophiles fixés par l'éthanol et non sur lames HEP-2.
- Que la présence d'AAN est observée (donc une source d'interférence), sur lames de polynucléaires neutrophiles fixés par le méthanol.
- Enfin que ces tests ne sont pas remboursés par la collectivité, et que leur réalisation systématique est à la charge exclusive du laboratoire qui les réalise.

De façon générale, on aura compris que, nous seuls biologistes, sommes à même de faire la synthèse des résultats biologiques. Il faut reconnaître qu'il s'agit d'une démarche qui prend du temps, et qui ne peut être effectuée par aucun des systèmes «expert», à ce jour et dans notre domaine d'activité. Il faut encore rappeler qu'il est important de ne pas laisser le clinicien confronté à une ambiguïté de résultats, au risque de perdre la valeur du service rendu que nous, biologistes, revendiquons pour la prise en charge du patient.

Déclaration d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de conflits d'intérêts en relation avec cet article.

Références

[1] Delacour, H., N. François, A. Servonnet, A. et al. 2009. Les rapports de vraisemblance : un outil de choix pour l'interprétation des tests biologiques. *Immuno-Anal. Biol. Spéc.* 24: 92-99.

[2] Aletaha, D., T. Neogi, A. J. Silman, et al. 2010. 2010 Rheumatoid

arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/ European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum.* 62: 2569-2581.

[3] Beauvillain, C., Y. Delneste, G. Renier, et al. 2008. Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies: how should the biologist manage them? *Clin. Rev. Allergy Immunol.* 35: 47-58.