

# Anticorps anti-SSB positifs seulement en multiplexage

Etude de la concordance clinico-biologique



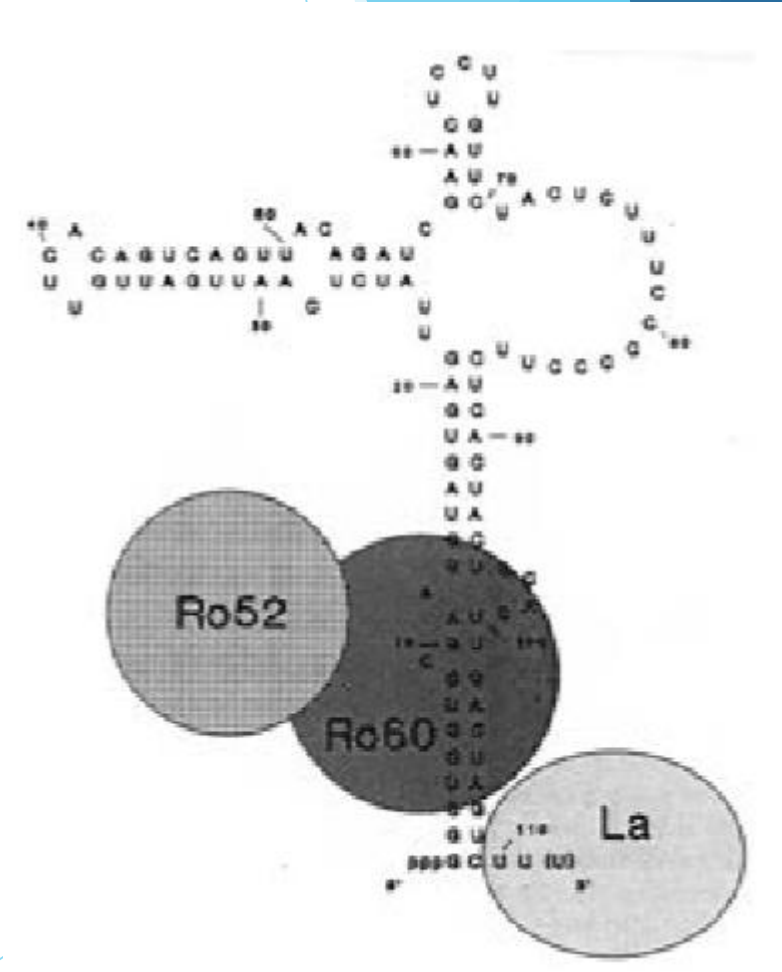
Corentin BASSI  
Laboratoire d'Immuno-allergologie du CHU d'Angers  
Travail réalisé sous la direction du Pr. CHEVAILLER

- I. L'anticorps anti-SSB
- II. Pathologies liées à cet anticorps
- III. Stratégie de dépistage et tests biologiques
- IV. Matériel et méthodes
- V. Résultats
- VI. Conclusion

# I. L'anticorps anti-SSB

# 1. Caractéristiques

- ▶ Anticorps anti-SSB/La
- ▶ Décrit en 1974 par Mattioli et Reichlin, puis associé au SGS par Alspaugh et Madison en 1976
- ▶ Cible:
  - ▶ Antigène SSB (48kDa) constitué de protéines de complexes ribonucléoprotéiques (YRNPs)
  - ▶ YRNPs présents naturellement dans toutes les cellules
  - ▶ Interviennent dans la maturation et/ou l'exportation vers le cytoplasme des transcrits matures de la RNA polymérase III : ARN ribosomal 5S, ARN de transfert, Y-ARN
- ▶ Présent dans le syndrome de Gougerot-Sjögren, le lupus érythémateux systémique (LES)
- ▶ Plus spécifique du syndrome de Gougerot-Sjögren que l'anticorps anti-SSA
- ▶ Presque toujours associé à l'anticorps anti-SSA



## 2. Physiopathologie

- ▶ Immunogénicité de la nucléoprotéine SSB:
  - ▶ Expression anormale dans le cytoplasme
  - ▶ Expression à la membrane également
  - ▶ Présence à l'intérieur des vésicules d'apoptose qui sont présentes en nombre augmenté dans les cellules épithéliales des glandes salivaires

- ▶ Cytokine BAFF (B-Cell Activating Factor) :
  - ▶ Naturellement présente sur les monocytes, les LT, les cellules dendritiques
  - ▶ Peut être sécrétée sous forme soluble
  - ▶ Se fixe sur un récepteur présent sur le lymphocyte B: BCMA, TACI, BR3
  - ▶ Souris transgénique pour BAFF : signes cliniques évoquant SGS/lupus/PR
  - ▶ Présente en excès dans les glandes salivaires accessoires de patients atteints de syndrome de Sjögren (LT, cellules épithéliales, LB)
  - ▶ Augmentée également dans la salive des patients, avec une corrélation entre son taux salivaire et les lésions de périodontites
  - ▶ Expression augmentée par interféron, notamment alpha
  - ▶ BAFF lien entre immunité innée et immunité adaptative?

## II. Pathologies liées à cet anticorps

# 1. Le syndrome de Gougerot-Sjögren

- ▶ Prédominance féminine (9/1)
- ▶ Age = 40-50 ans
- ▶ Pathologie auto-immune fréquente: 0,01 à 0,1% de la population générale
- ▶ Clinique:
  - ▶ Atteinte des glandes exocrines, surtout salivaires et lacrimales
  - ▶ Atteinte articulaire
- ▶ Critères diagnostiques d'après les recommandations du « groupe de consensus Européano-Américain » exigent au moins une anomalie immunologique objective:
  - ▶ Infiltrat inflammatoire nodulaire Chisholm 3 ou 4 sur biopsie des glandes salivaires accessoires (BGSA)
  - ▶ Ou présence d'auto-anticorps anti-SSA ou anti-SSB
- ▶ Deux formes : primitive si syndrome isolé, secondaire si associé à une autre pathologie auto-immune (PR, LES, sclérodermie, polymyosite, CBP)
- ▶ Souvent associée à une hypergammaglobulinémie polyclonale
- ▶ Prévalence des auto-anticorps:
  - ▶ Anti-SSA: 70-100% des SGS
  - ▶ Anti-SSB: 40-90% des SGS
- ▶ Complication grave : lymphome



## 2. Le lupus

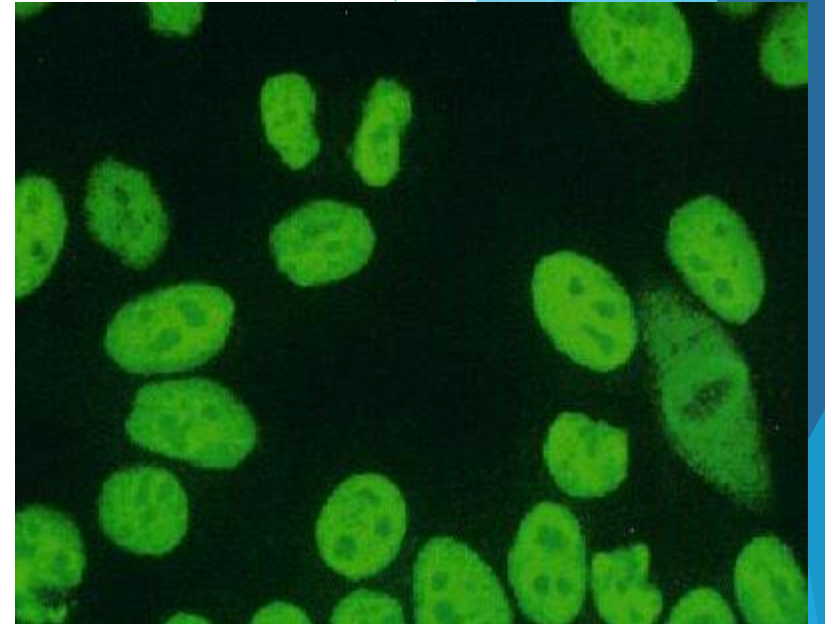
- ▶ Pathologie auto-immune fréquente
- ▶ Prédominance féminine
- ▶ Age 20-40 ans
- ▶ Lupus érythémateux systémique (LES) :
  - ▶ Anti-SSB présent dans 10% des cas, anti-SSA dans 40%
  - ▶ Action sur les PNN de l'anticorps anti-SSB : défaut de phagocytose et de production d'IL-12, voire neutropénie
- ▶ Lupus néonatal : risque de bloc auriculo-ventriculaire congénital si présence d'anti-SSA, majoré si présence d'anti-SSB

### III. Stratégie de dépistage et tests biologiques

# 1. Technique de première intention

## Immunofluorescence indirecte

- ▶ Sur cellules HEp-2 (Human Epithelial cell line: type 2)
- ▶ Etape de perméabilisation des cellules
- ▶ Révélation des auto-anticorps fixés par l'utilisation d'un antisérum couplé à l'isothiocyanate de fluorescéine
- ▶ Lecture au microscope équipé en épifluorescence à x400
- ▶ Détermination du titre d'autoanticorps par dilutions successives
- ▶ Aspect anticorps anti-SSB : fines mouchetures nucléaires

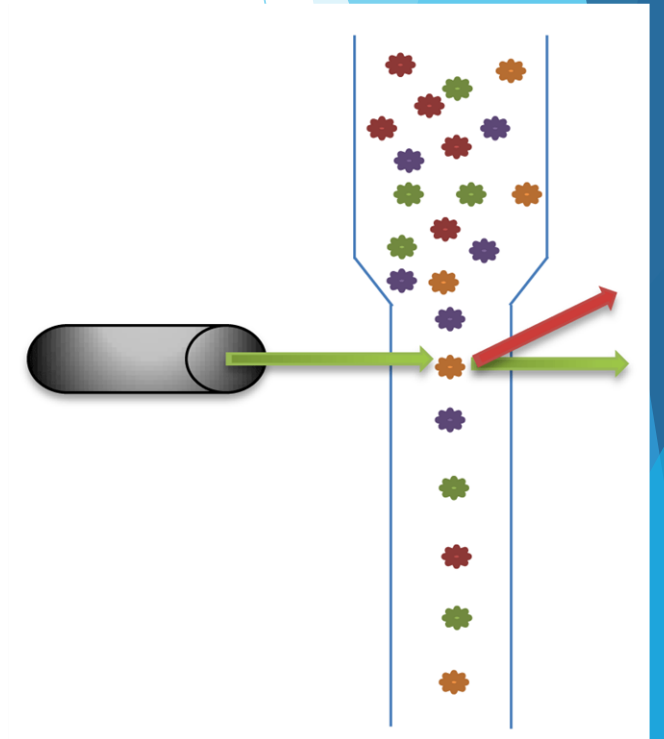


**Fines mouchetures nucléaires**

## 2. Technique de seconde intention

### Multiplexage par Bioplex® 2200

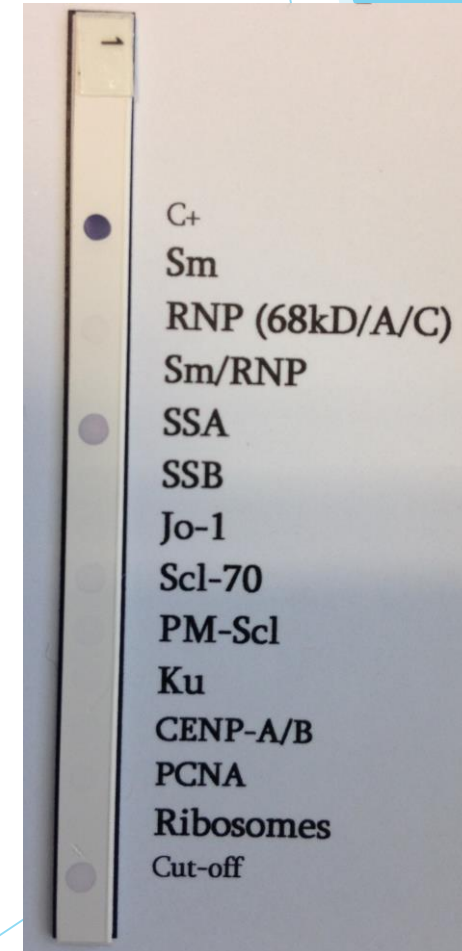
- ▶ Technologie dérivée de la cytométrie en flux
- ▶ Utilisation de microbilles de polystyrène de 8 µm diamètre
- ▶ Lors de la mise en suspension des billes dans l'échantillon, les anticorps éventuellement présents se fixe sur les antigènes
- ▶ Ajout d'anticorps anti-immunoglobulines humaines couplés à un fluorochrome
- ▶ Passage des billes une par une devant deux faisceaux lasers
- ▶ Seuil de positivité de l'anticorps anti-SSB : > 1 IA (Indice Anticorps)



# 3. Techniques de troisième intention

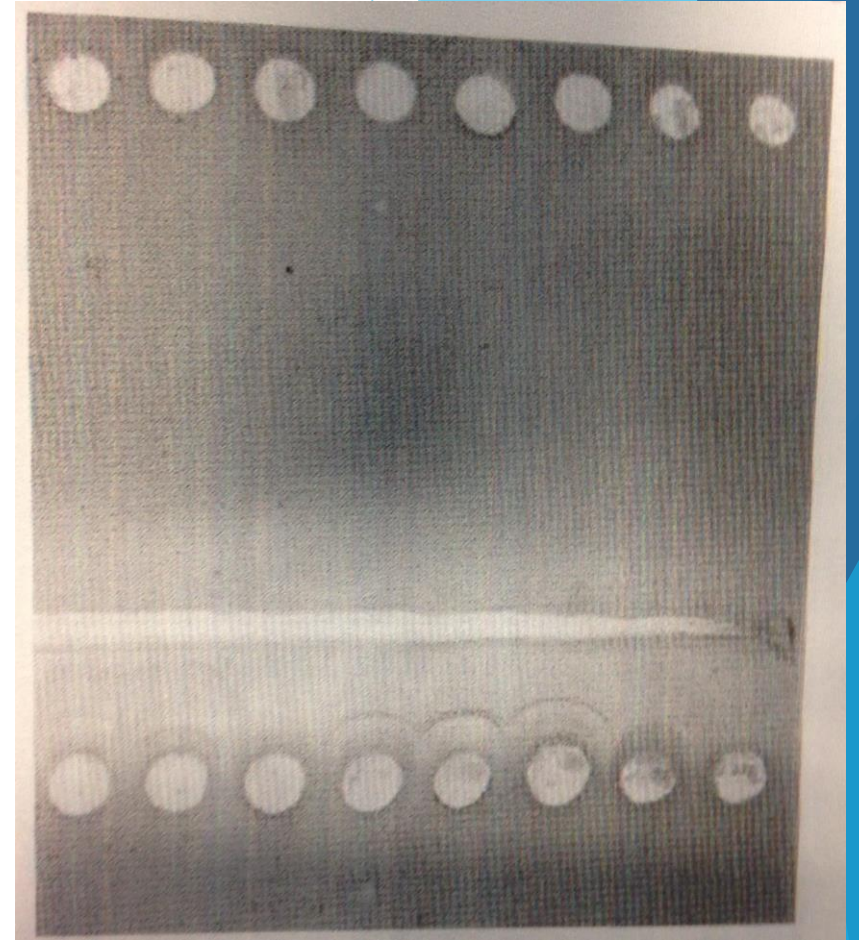
## Immunodots

- ▶ Repose sur un principe voisin de l'ELISA
- ▶ Antigène à mettre en évidence est déposé sur une membrane fixée à un support plastique
- ▶ Le sérum du patient est mis en contact avec ce support, les anticorps se lient alors à l'antigène
- ▶ Ajout d'un conjugué anti-IgG humaines marqué par une enzyme, puis de son substrat
- ▶ La dégradation du substrat est alors proportionnelle à la quantité d'enzyme et donc d'anticorps présent
- ▶ La lecture se fait en fonction du cut-off



## Electrosynérèse

- ▶ Technique de référence
- ▶ Variante de l'immunodiffusion double d'Ouchterlony
- ▶ Utilisation d'un gel d'agarose
- ▶ Disposition de la solution antigénique dans une rigole
- ▶ Disposition des sérums à tester et des sérums témoins dans les puits
- ▶ Un courant électrique traverse le gel d'agarose
- ▶ Des complexes anticorps-antigènes se forment
- ▶ Lecture des arcs de précipitation pour comparer les sérums patients et les sérums témoins

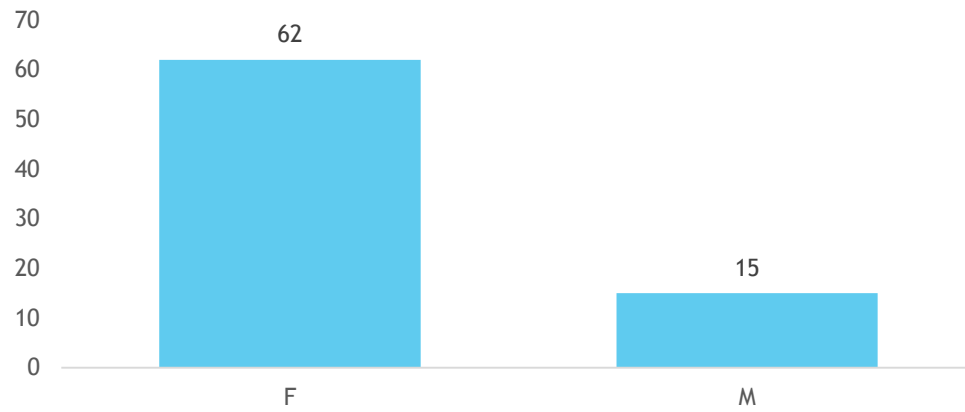


## IV. Matériel et méthodes

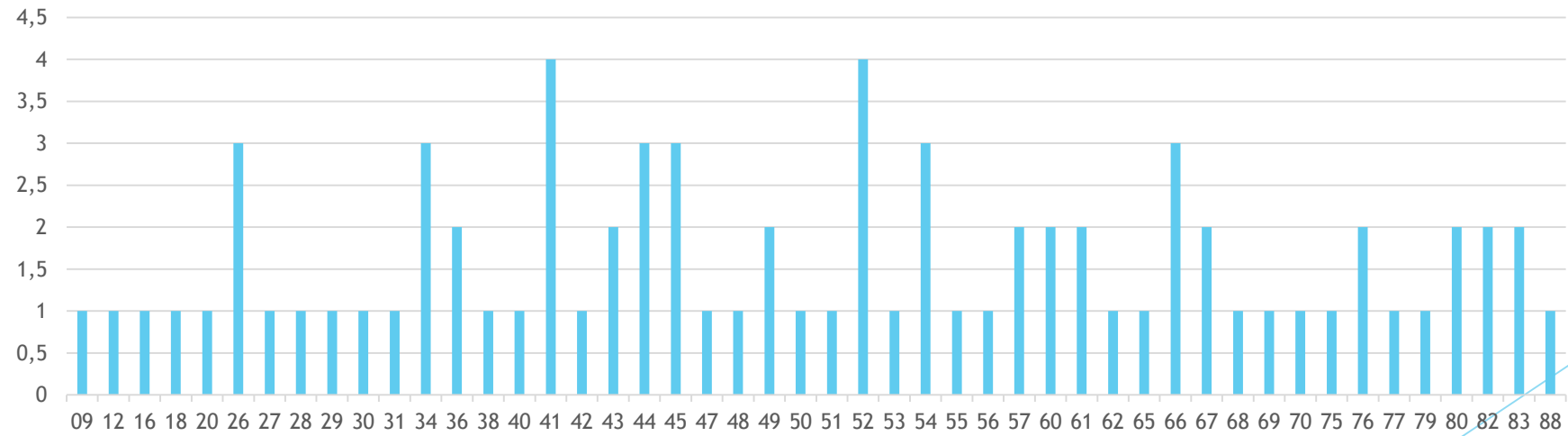
- ▶ Nombre important d'anticorps anti-SSB positifs en multiplexage, mais négatifs dans les autres techniques
  - ▶ Est-ce que cette donnée biologique est concordante chez les patients par rapport aux données scientifiques actuelles relative à la présence de cette auto-anticorps?
- 
- ▶ 10138 patients avec recherche d'anticorps anti-SSB en multiplexage entre le 01/01/2012 et le 01/02/2015
  - ▶ 77 patients inclus avec l'anticorps positif uniquement en multiplexage
  - ▶ Résultats extraits du logiciel GLIMS®
  - ▶ Résultats analysés avec Microsoft Excel®



### Répartition selon le sexe



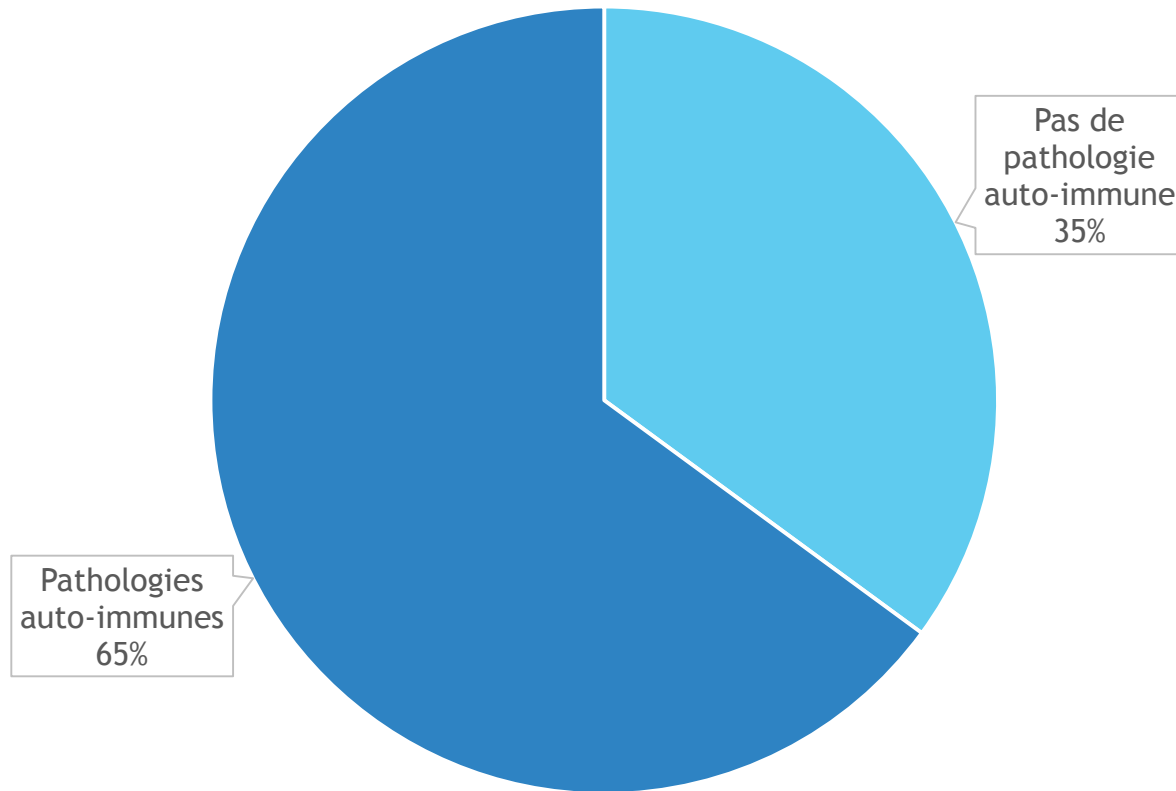
### Répartition selon l'âge



# V. Résultats

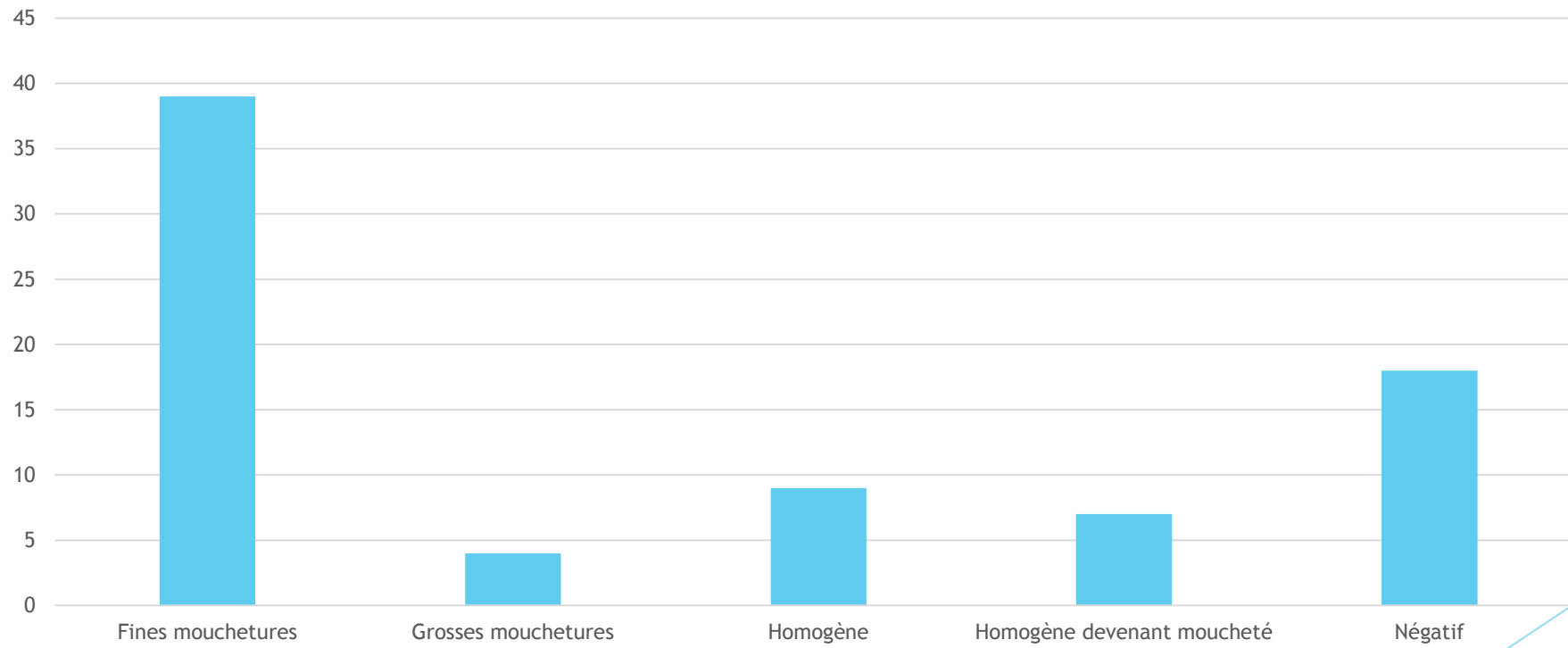


# 1. Données générales

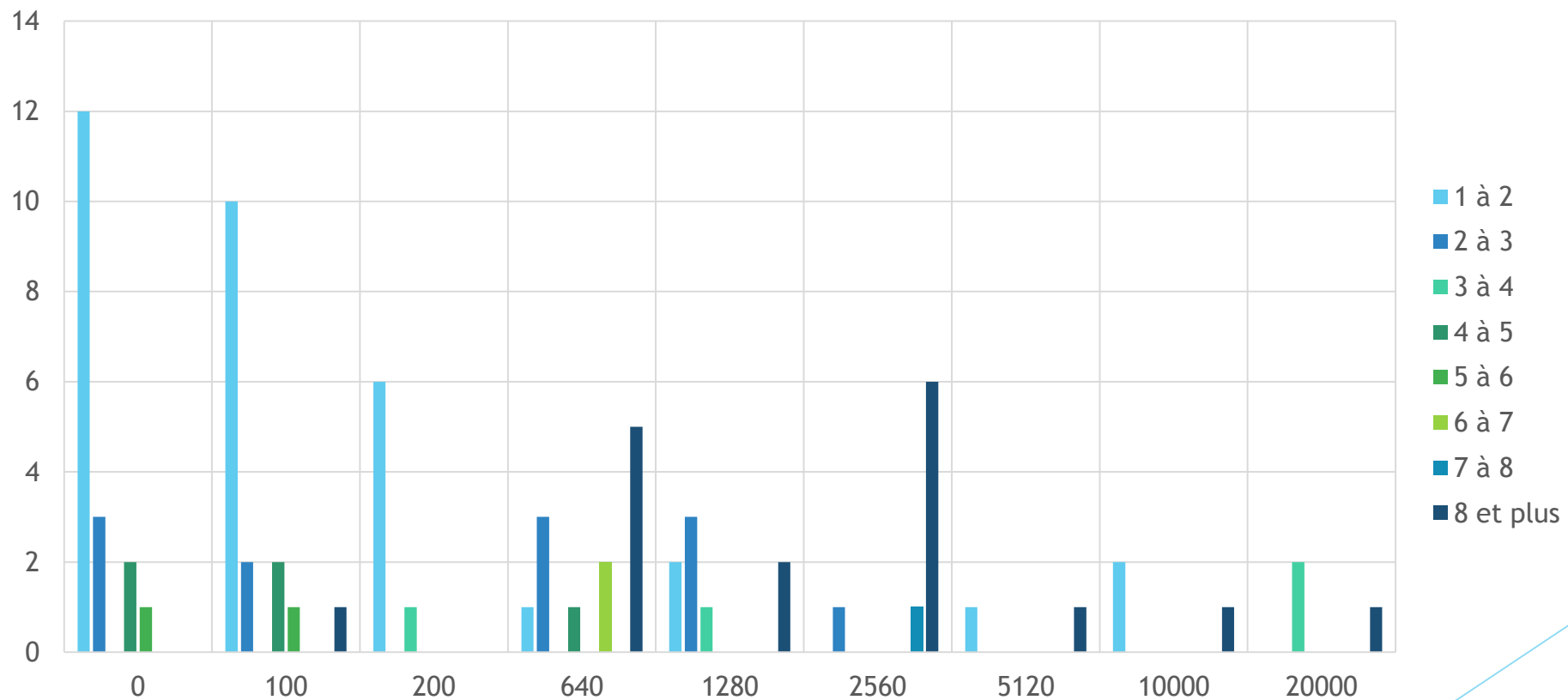


Pathologies auto-immunes	Représentation
Syndrome de Gougerot-Sjögren	62%
Lupus	14%
Maladie de Raynaud	4%
Maladie de Crohn	4%
Vitiligo	2%
Sclérodemie	2%
Sarcoïdose	2%
Pseudo-polyarthrite rhumatoïde	2%
Polyarthrite rhumatoïde	2%
Granulomatose avec polyangéite	2%
Connectivite mixte	2%
Dermatomyosite	2%

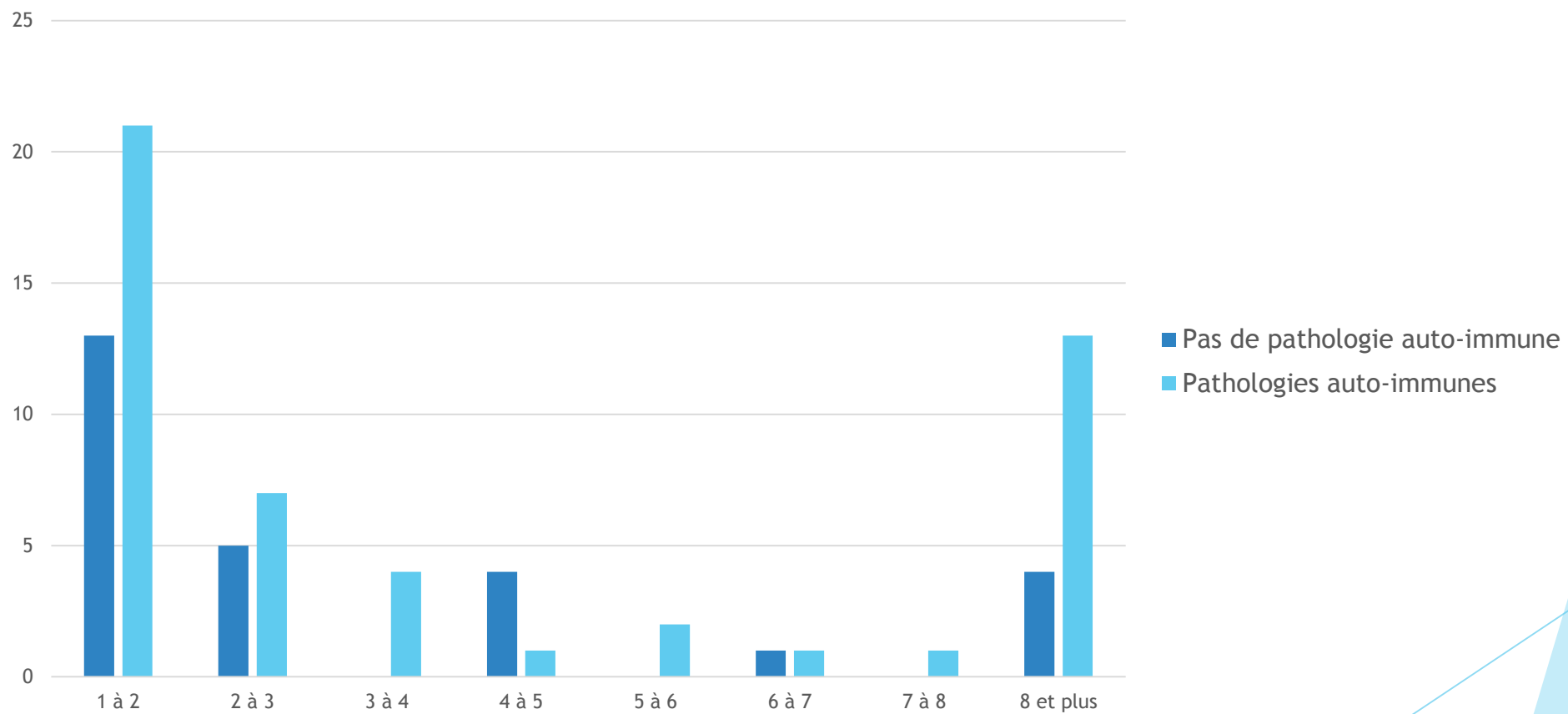
### Aspect en immunofluorescence



Titre d'auto-anticorps et valeur en multiplexage

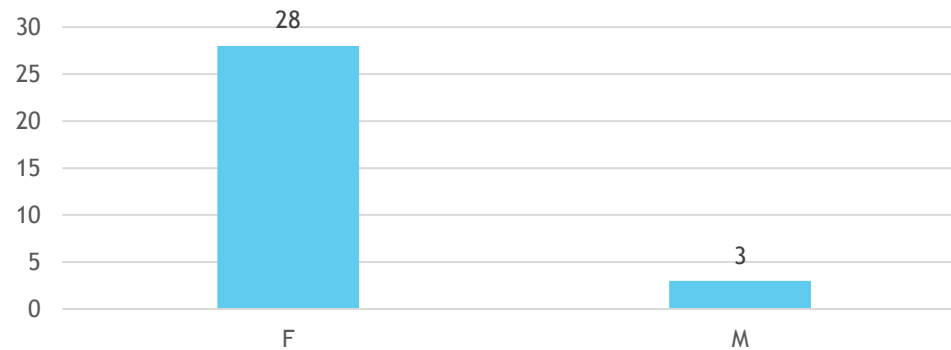


## Diagnostic et valeurs en multiplexage

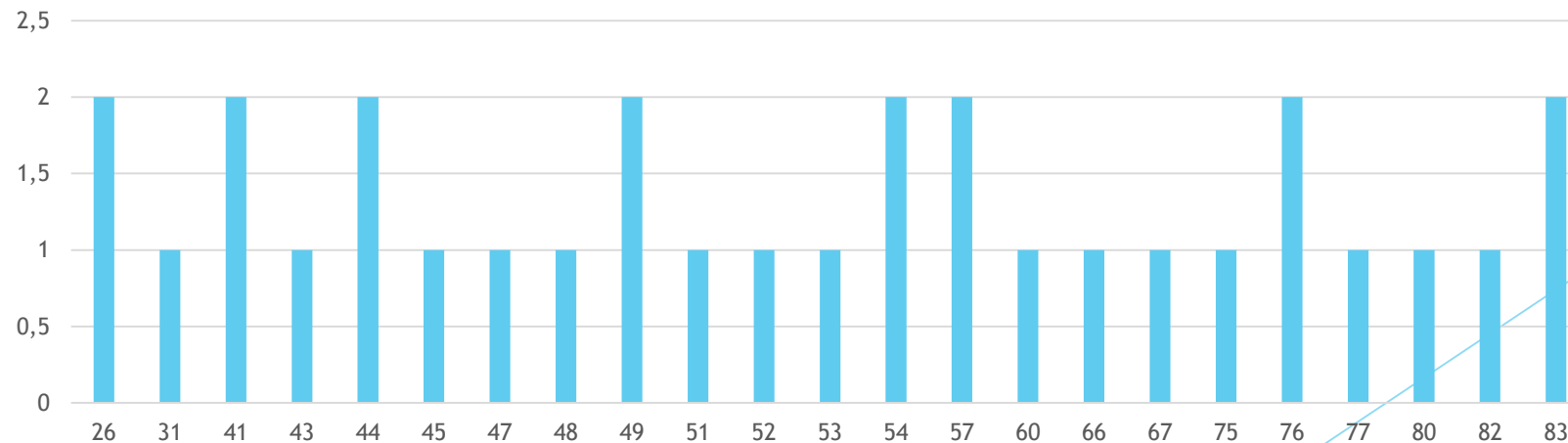


## 2. Données limitées au diagnostic de syndrome de Gougerot-Sjögren

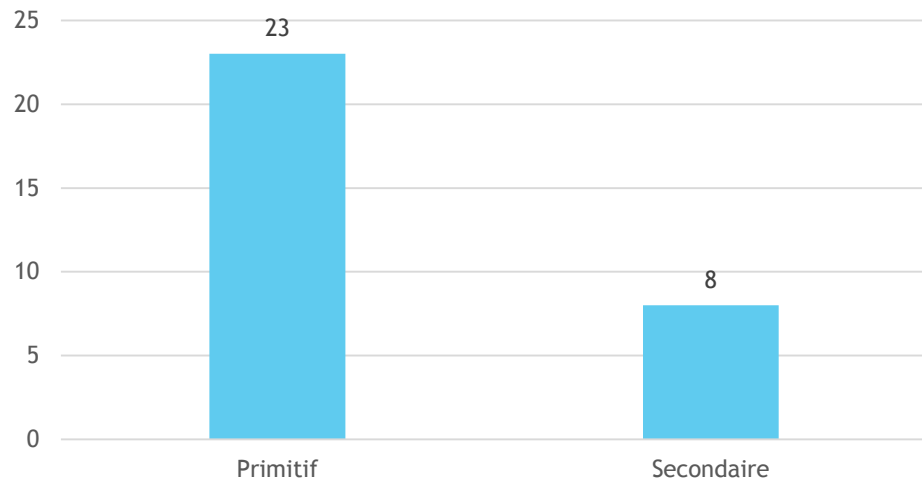
Répartition selon le sexe



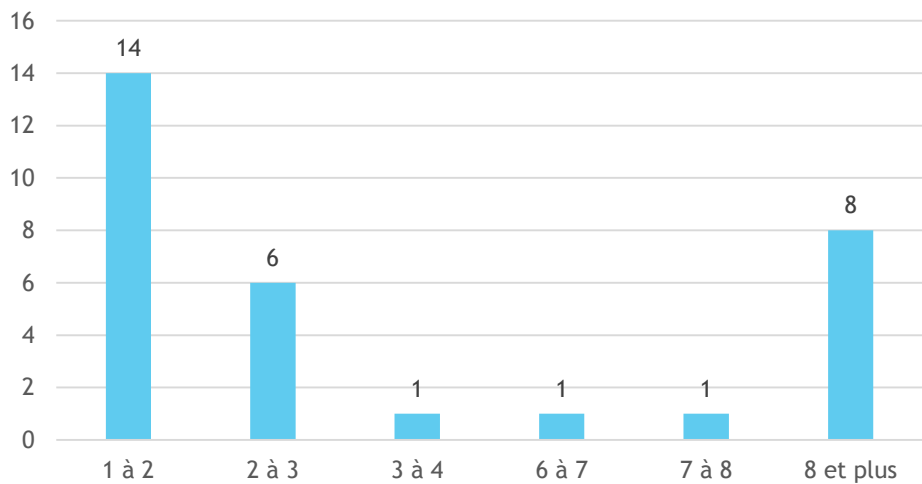
Répartition selon l'âge



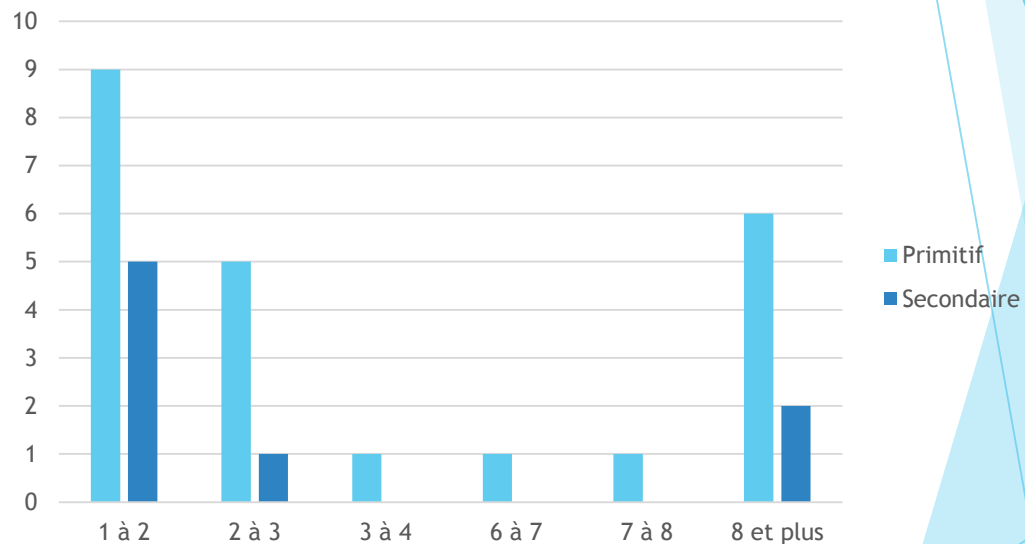
### Nature du syndrome de Gougerot-Sjögren



### Valeur en multiplexage

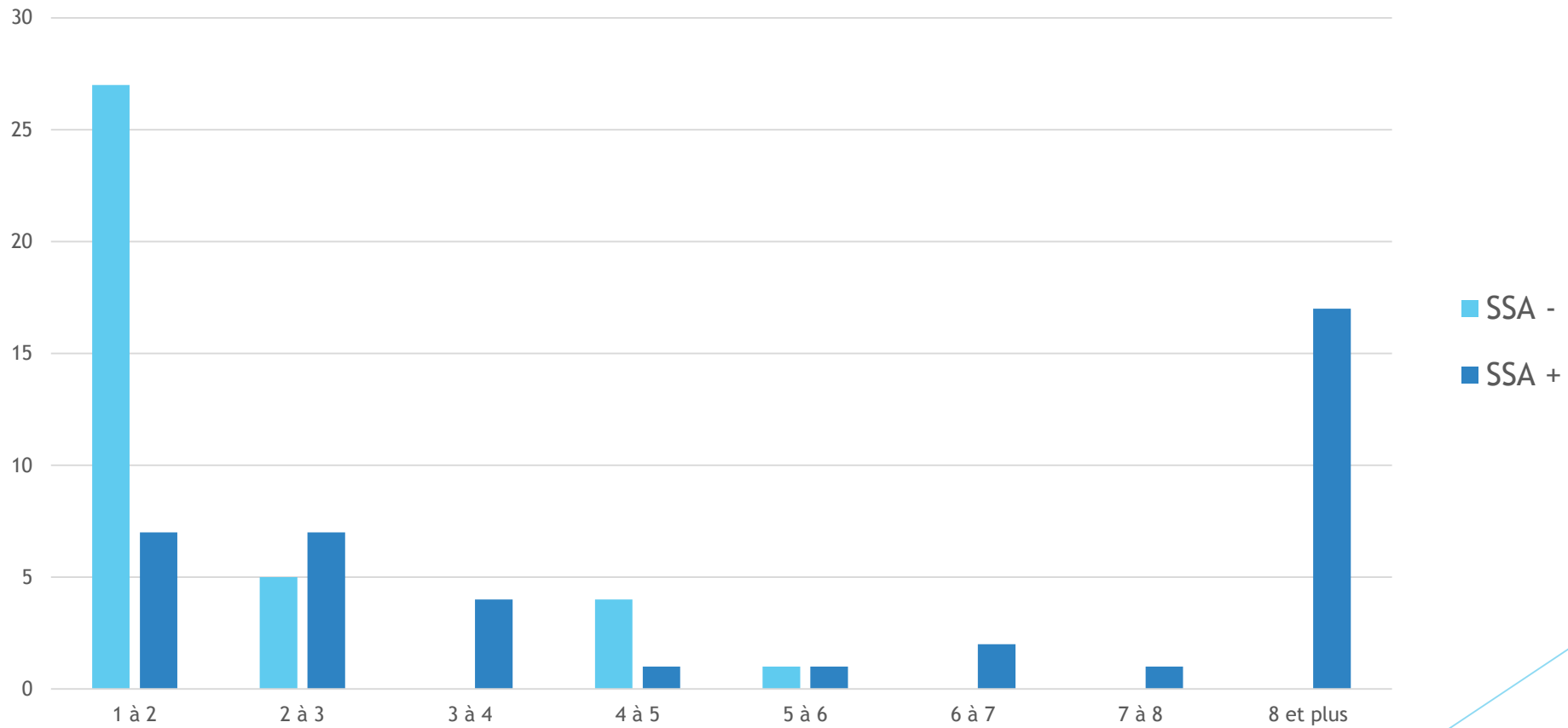


### Nature du syndrome de Gougerot-Sjögren et valeur en multiplexage

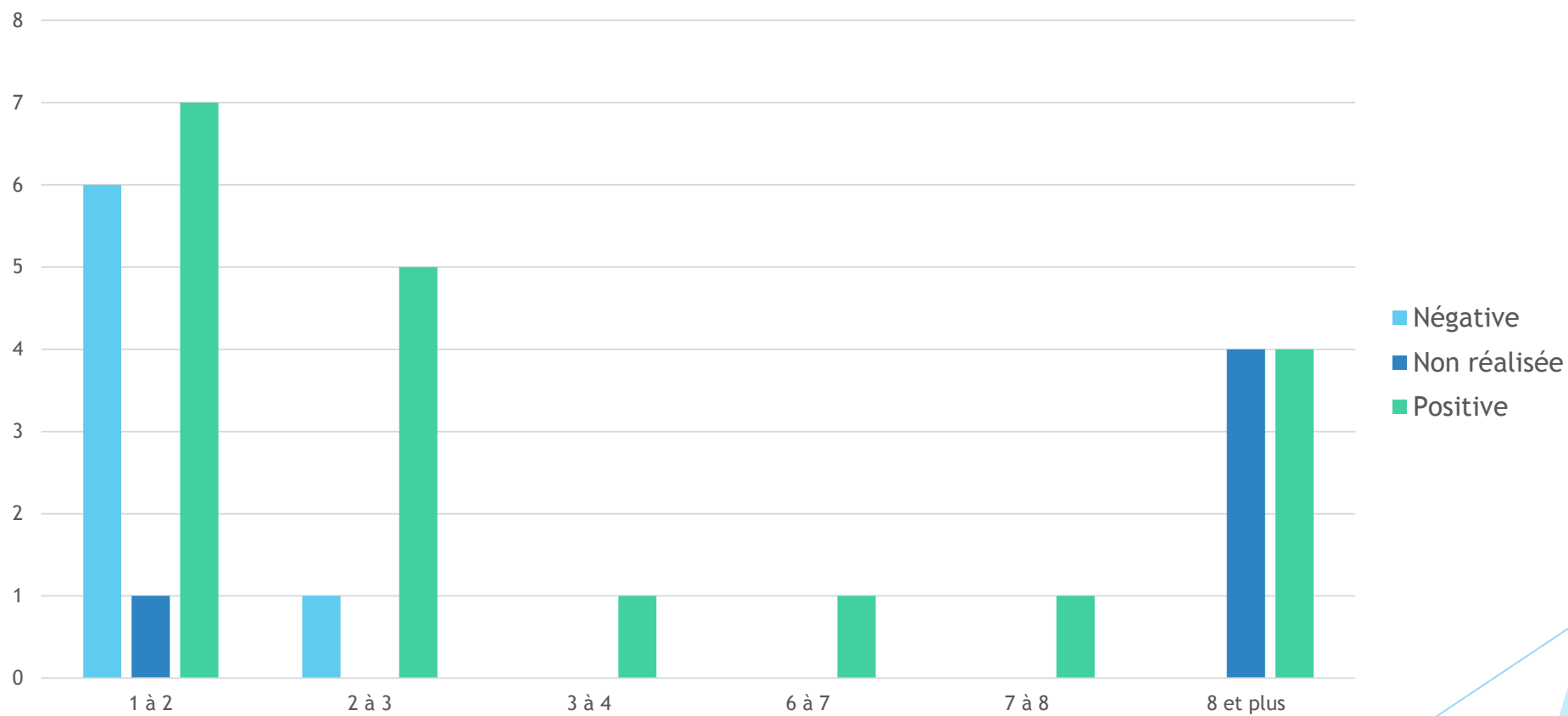




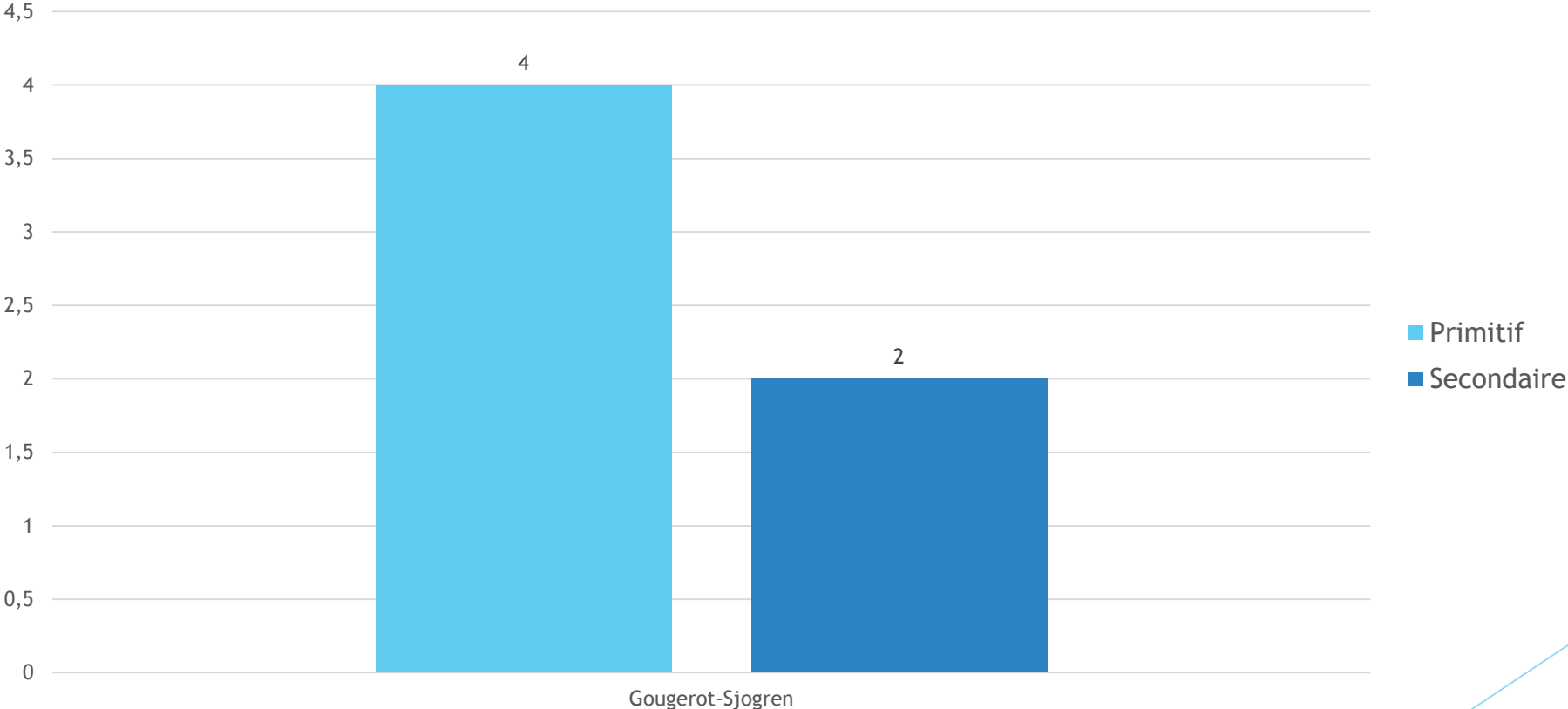
Existe-t-il un lien entre la valeur de l'anticorps anti-SSB en multiplexage et la positivité de l'anticorps anti-SSA?



Et entre la valeur de l'anticorps anti-SSB en multiplexage et le résultat de la biopsie des glandes salivaires accessoires?



# Patients étiquetés syndrome de Gougerot-Sjögren, mais avec BGSA et anticorps anti-SSA négatifs



# VI. Conclusion

- ▶ Concordance avec les données scientifiques actuelles:
  - ▶ Aspect en immunofluorescence
  - ▶ Lupus et SGS représentent 50% des diagnostics
  - ▶ Syndrome de Gougerot-Sjögren:
    - ▶ Prédominance féminine
    - ▶ SGS primitif
- ▶ Divergence:
  - ▶ Syndrome de Gougerot-Sjögren:
    - ▶ Valeurs des âges étalées
    - ▶ Nombre important de diagnostic de SGS alors que BGSA et anti-SSA sont négatifs

- ▶ Valeurs semblent globalement cohérentes avec les manifestations cliniques liées à la présence de l'anticorps anti-SSB:
  - ▶ Majorité de SGS
  - ▶ Majorité de forme primitive parmi les SGS
  - ▶ Prédominance féminine
  - ▶ Concordance des valeurs élevées en multiplexage avec un anticorps anti-SSA positif ou une BGSA positive
- ▶ Syndrome de Gougerot-Sjögren clinique sans positivité pour l'anticorps anti-SSA ni sur la BGSA trouvent ici un argument diagnostique

Merci de votre attention

The background features abstract, overlapping geometric shapes in various shades of blue, ranging from light sky blue to deep navy blue. These shapes are primarily located on the right side of the frame, creating a modern, layered effect against the white background.

# Bibliographie

- ▶ *Dépistage des anticorps dirigés contre les antigènes nucléaires solubles;* Alain Chevailler, Céline Beauvillain, François Carrère
- ▶ *Techniques ELISA en auto-immunité;* Catherine Johanet, Eric Ballot
- ▶ *Syndrome de Gougerot-Sjögren;* Xavier Mariette, Jean Sibilia
- ▶ *Actualités sur les anti-SSA/Ro et anti-SSB/La;* Olivier Meyer
- ▶ *Critères diagnostiques du syndrome de Gougerot-Sjögren;* Coralie Varoquier, Jean-Hugues Salmon, Jean Sibilia, Jacques-Eric Gottenberg
- ▶ *Physiopathologie du syndrome de Gougerot-Sjögren;* Xavier Mariette
- ▶ *Physiopathologie du syndrome de Gougerot-Sjögren primitif;* C. Martel, M.-O. Jauberteau, E. Vidal A.-L. Fauchais



- ▶ *Les nouveaux anticorps du syndrome de Gougerot-Sjögren primaire; P. Youinou, Y. Renaudineau*
- ▶ *Presence of antibodies to SSB/La is associated with decreased phagocytic efficiency of neutrophils in patient with systemic lupus erythematosus; Debasis Biswas, Amrita Mathias, Rajeshwar Dayal, Amita Aggarwal, Ramnath Misra, Sita Naik*
- ▶ *Anti-SSB/La modulates PMN functions; S.-C. Hsieh et al.*
- ▶ *La technologie Luminex® : application à la recherche des autoanticorps; Nils-Olivier Olsson*
- ▶ *Aspect des anticorps antinucléaires sur les cellules HEp-2; Charlotte Magdelaine, Céline Vigneron, Danielle Degenne*