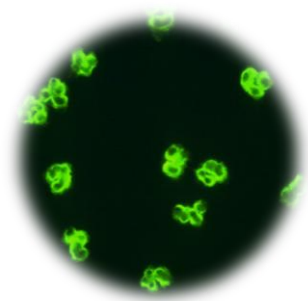


Le bilan immunologique mode d'emploi

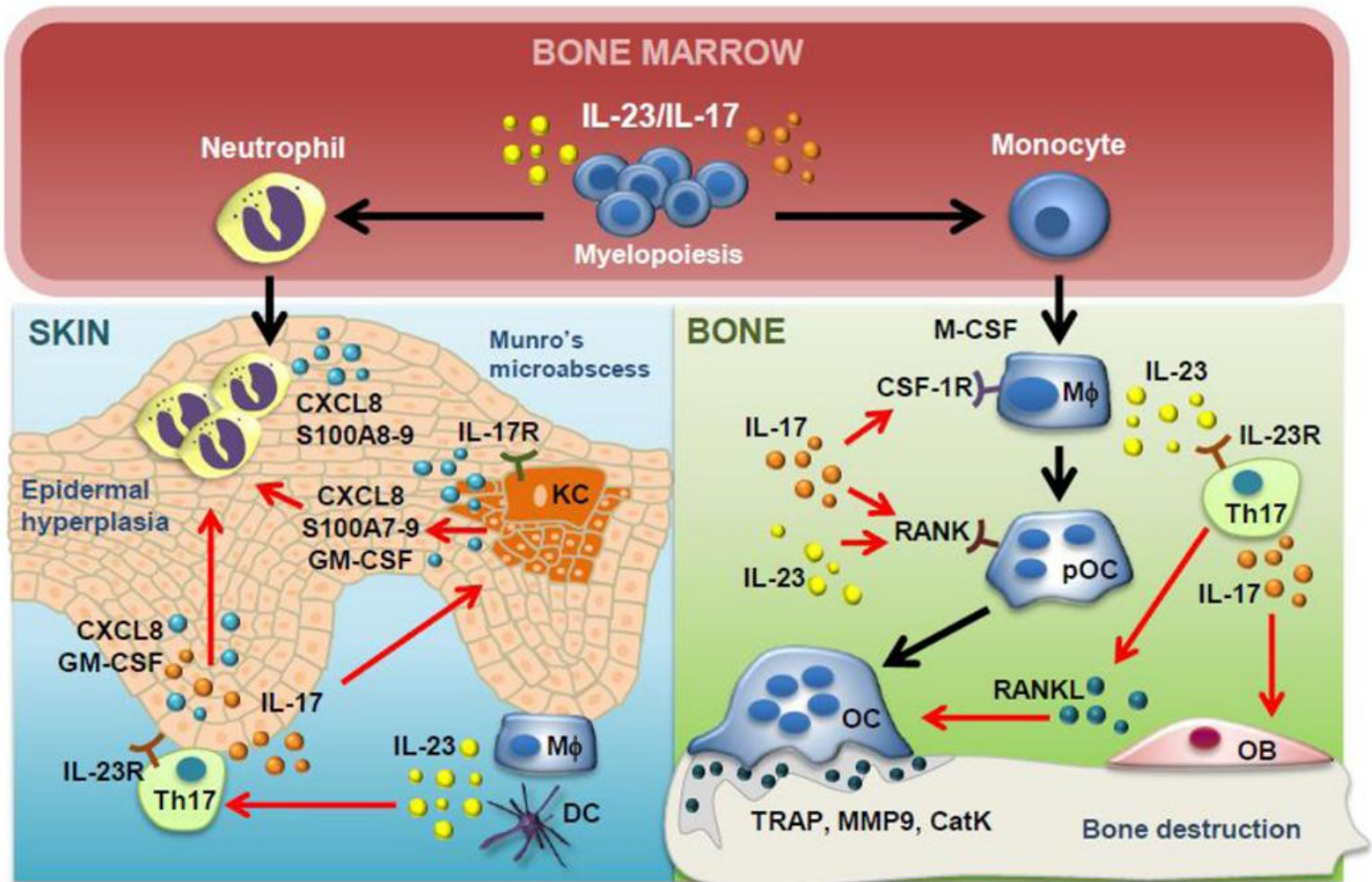


ELÉONORE BETTACCHIOLI et ALAIN SARAUX
Immunologie et Rhumatologie
CHRU Brest

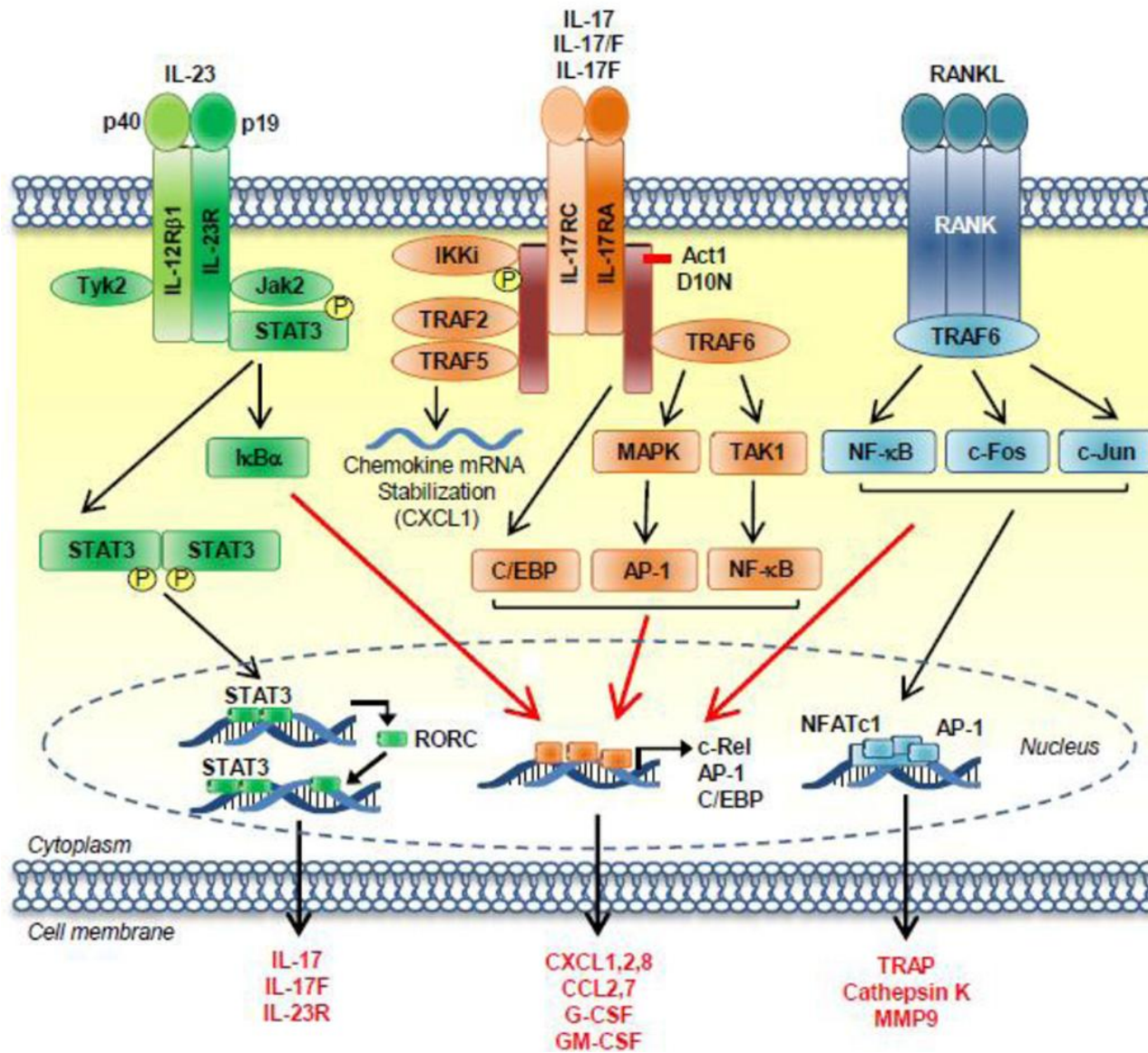
JMB 2021

Agenda

- Le système immunitaire a capella
- Des cas cliniques



Schematic of myeloid-derived cellular networks in IL-23/IL-17-mediated psoriatic arthritis



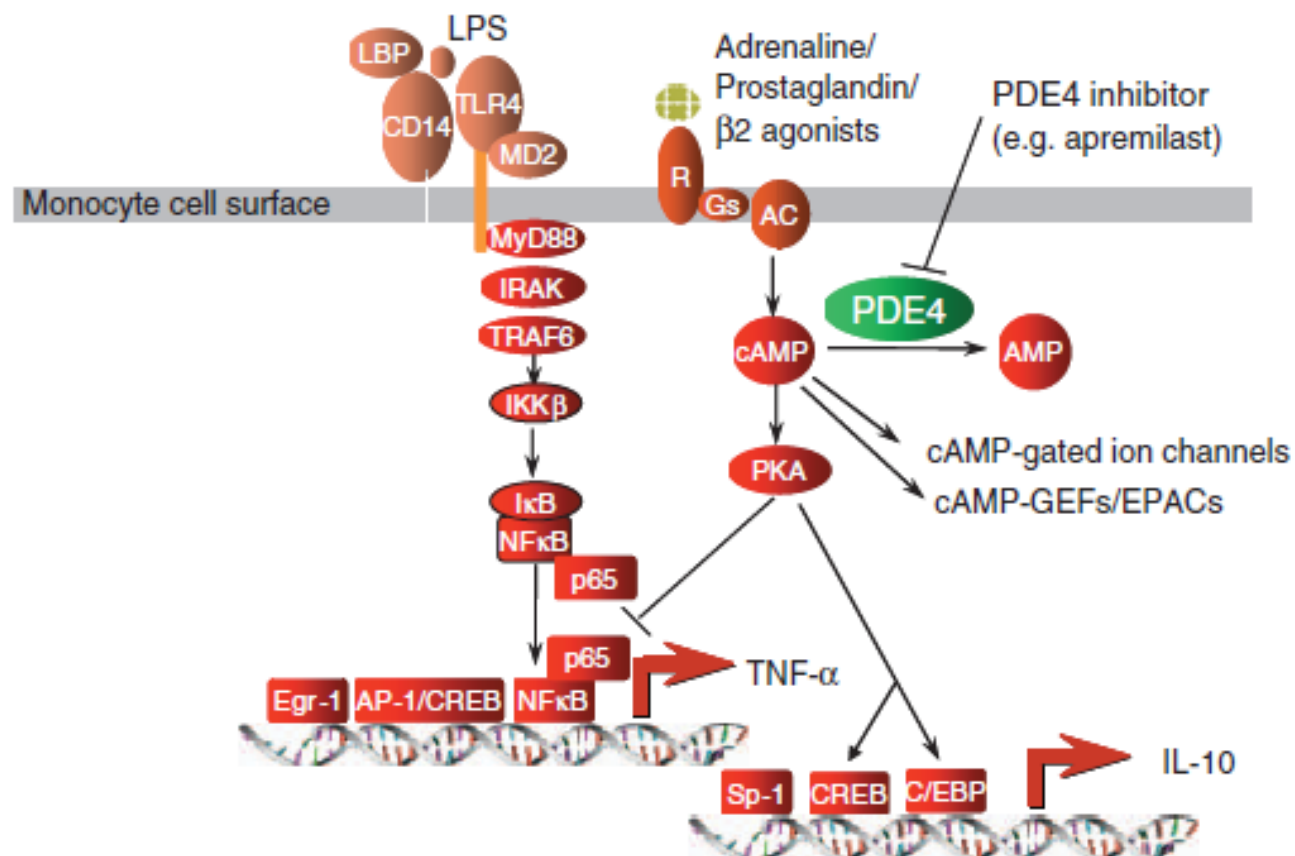


Figure 1. Mechanism of action of PDE4 inhibition in monocytes.

Le système immunitaire

- Inné
- Adaptatif
 - Cellulaire
 - Humoral

Cas clinique

- Madame A, 50 ans, a des douleurs des mains.
- Sur quels signes d'interrogatoire allez-vous évoquer une PR?

Quand devez vous l'évoquer par l'interrogatoire

- un dérouillage matinal $\geq$ 30 minutes ;
- des réveils nocturnes du fait de la douleur ;
- une amélioration des douleurs à la mobilisation des articulations ;
- une exacerbation de ces douleurs au repos.

Cas clinique

- Madame A, 50 ans, a des douleurs des mains.
- Par quels signes d'examen clinique allez-vous suspecter une polyarthrite ?

Quels signes cliniques alors rechercher?

- Articulations gonflées
- Squeeze test
- Examen général
 - En faveur de la PR: nodules rhumatoïdes, exceptionnel
 - En faveur d'un diagnostic différentiel: fièvre, souffle cardiaque, psoriasis, etc...



Conduite à tenir

- Que faites vous-alors?
- Que faut il surtout ne pas faire?

Que faire en présence d'un de ces signes: l'adresser au rhumatologue

A faire et ne pas faire

- A faire:
 - Ne pas hésiter à appeler le rhumatologue pour dire que c'est une suspicion de rhumatisme inflammatoire débutant, car il acceptera de voir le patient ou la patiente plus vite
 - Proposer un anti-inflammatoire ou un antalgique
- A ne pas faire
 - Prescrire de la cortisone

Que faire en présence d'un de ces signes

L'adresser au rhumatologue

- Car il faut impérativement qu'il constate les synovites au moins une fois puisqu'il ne peut pas y avoir de polyarthrite diagnostiquée sans arthrite.....
- Et si c'est bien un polyarthrite il doit éliminer les autres causes que la PR

En attendant le rendez vous prescrire les examens complémentaires

RX (mains, avant-pieds
[de face et de trois quarts], poumons)

FR, anti-CCP

AAN

NFS, uricémie, SGOT, SGPT, Ph alcalines,
créatinine, bandelette urinaire,
ponction articulaire si épanchement

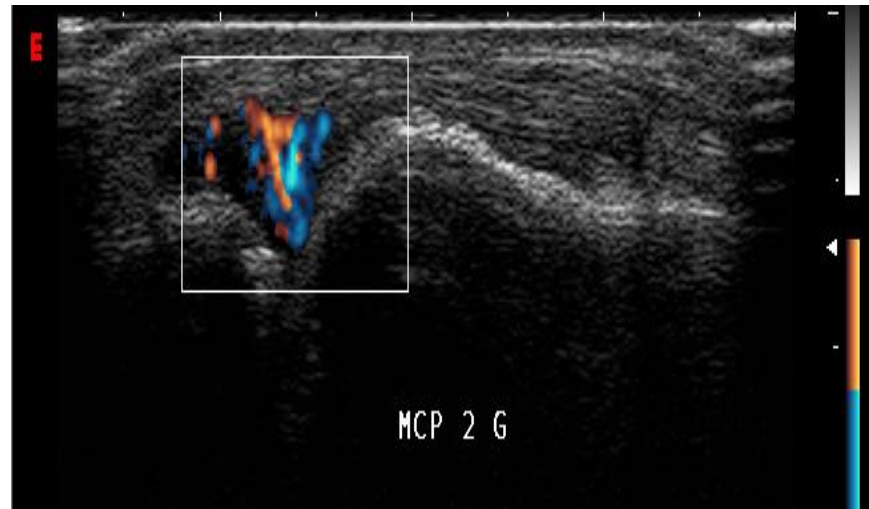
Chez le rhumatologue

- Que va faire le rhumatologue?
 - Pour confirmer la polyarthrite
 - Pour confirmer qu'elle est rhumatoïde
 - Pour en formuler le pronostic
 - Pour traiter la PR
 - Pour éviter les effets secondaires et complications

Que va faire le rhumatologue?

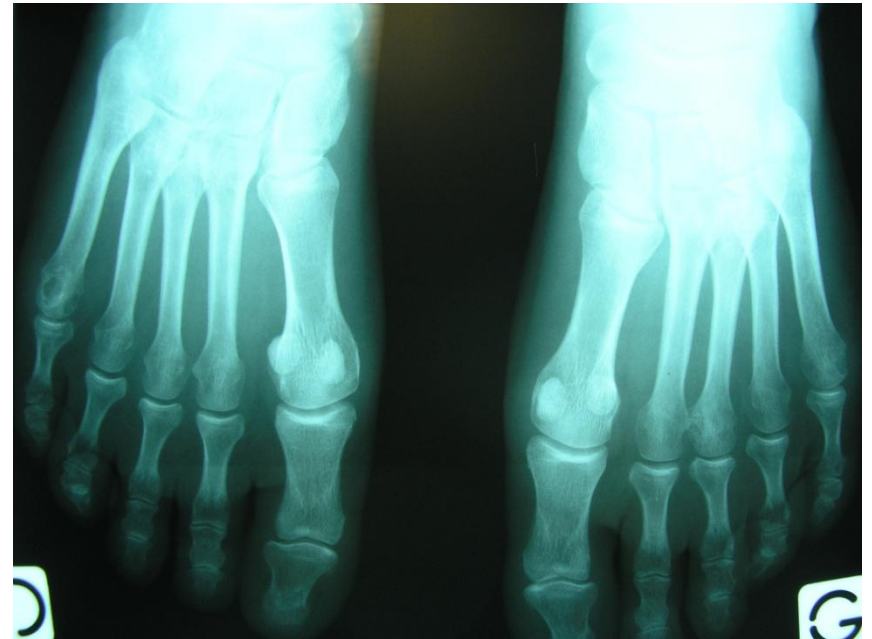
Confirmer les synovites, ce qui est possible

- Soit cliniquement
- Soit par une ponction articulaire si c'est une grosse articulation
- Soit par une échographie qu'il fera dans le même temps
- Soit plus exceptionnellement en prescrivant une IRM



Que va faire le rhumatologue?

- Après avoir confirmé la présence d'arthrite le rhumatologue doit
 - rechercher si la maladie est déjà érosive ce qui signerait le diagnostic de PR
 - éliminer la présence de diagnostic différentiel, ce qui est indispensable en utilisant l'interrogatoire, l'examen clinique et les examens complémentaires déjà prescrits par vous même



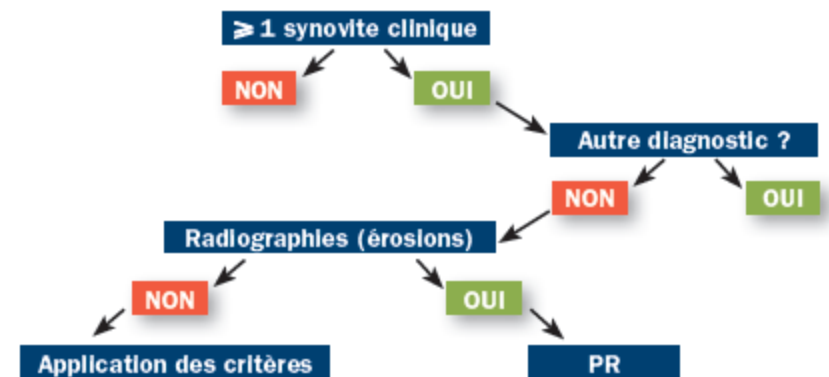
- Après avoir confirmé la présence d'arthrite le rhumatologue doit
 - éliminer la présence de diagnostic différentiel, ce qui est indispensable en utilisant l'interrogatoire, l'examen clinique et les examens complémentaires déjà prescrits par vous même

Tableau. Principaux examens complémentaires pouvant être demandés selon les signes d'orientation	
Signes d'orientation	Examens pour le diagnostic positif
Contexte et terrain Antécédents personnels d'enthésites, de rachialgies inflammatoires, de psoriasis, d'infection génitale ou d'entérocolopathie, antécédents familiaux de spondyloarthrite, d'entérocolopathie ou de psoriasis Traitement par inducteur de lupus Adolescent, contexte viral Obèse, éthylique chronique	HLA B27, selon contexte : prélèvement génital, coproculture, sérologies AAN Sérologie parvovirus B19 Uricémie, ponction articulaire ou de tophus
Siège des atteintes évoquant - une spondylarthropathie (axial, asymétrie) - une chondrocalcinose (poignets, genoux) - une PR (symétrie) - une sarcoïdose (chevilles) - une goutte (gros orteils)	HLA B27 Radiographies des mains, poignets, bassin, genoux FR, anti CCP RP, ECA Uricémie
Atteinte extra-articulaire Atteinte cutanéovasculaire Érythème noueux Érythème Vascularite (nodules, purpura...) Phlébite Maladie de Raynaud, doigts boudinés Divers : pigmentation, psoriasis, pustules, tophus, sclérose cutanée...	ECA Sérodiagnostic parvovirus et maladie de Lyme, NFS, AAN, complément, biopsie de peau (avec immunofluorescence) NFS, FR, AAN, cryoglobuline, ANCA, VIH, hépatites B et C, biopsies (peau, muscle, artère...), RP TCA, aPL, VDRL, AAN, AAN, cryoglobuline, FR Selon la lésion
Autres atteintes Atteinte polyviscérale de connectivites	NFS, FR, AAN, CPK, cryoglobuline, capillaroscopie, RP, BGS, bandelette urinaire

Que va faire le rhumatologue?

- Il confirme la présence de synovite
- Il n'y a pas de diagnostic différentiel qui exclurait la polyarthrite rhumatoïde
- Il y a des érosions en radiographie qui signeraient le diagnostic ou, comme dans son cas, plus de 6 points selon les critères

Fig. 1. Conditions d'application des critères ACR/EULAR 2010 de PR



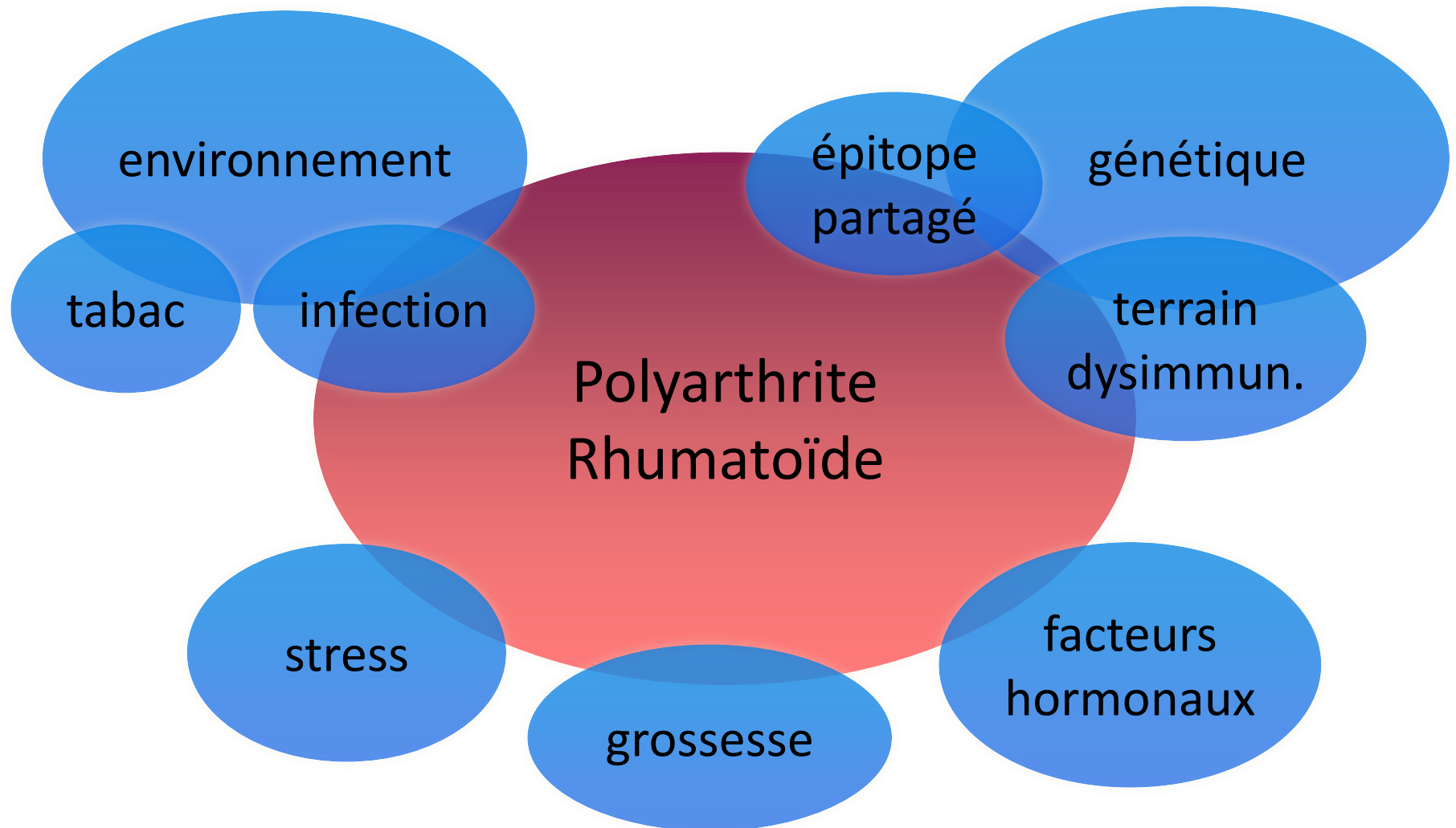
Que va faire le rhumatologue?

- Ces critères s'ils sont supérieurs à 6 points signent aussi la diagnostic de PR

Critère d'éligibilité :	
1) Avoir au moins 1 articulation avec synovite clinique (gonflement)	
2) En l'absence de tout autre diagnostic	
Un score ≥ 6 est requis pour retenir le diagnostic de polyarthrite rhumatoïde définie	
A. Atteinte articulaire	
1 grosse articulation	0
2-10 grosses articulations	1
1-3 petites articulations (avec ou sans grosses articulations touchées)	2
4-10 petites articulations (avec ou sans grosses articulations touchées)	3
> 10 articulations (dont au moins 1 petite)	5
B. Sérologie (au moins 1 test réalisé)	
FR négatif et ACPA négatif	0
Faible positivité (FR ou ACPA)	2
Forte positivité (FR ou ACPA)	3
C. Syndrome inflammatoire (au moins 1 test réalisé)	
CRP normale et VS normale	0
CRP anormale ou VS anormale	1
D. Durée des symptômes	
< 6 semaines	0
≥ 6 semaines	1

Valeur « seuil » : 6/10

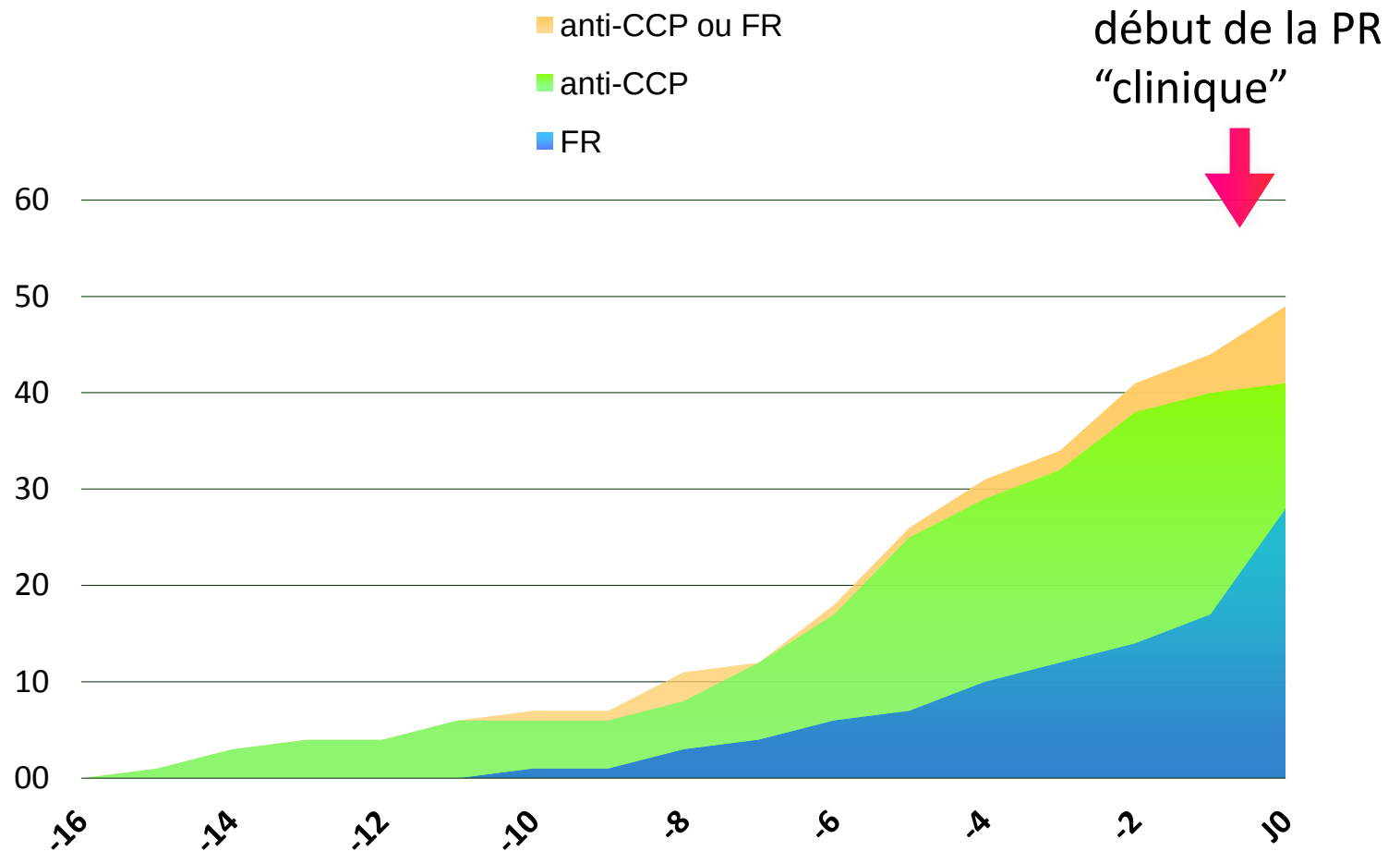
une maladie plurifactorielle



Le conflit immunologique précède la PR

Enquête auprès de 5000 PR -> 79 donneurs de sang

1188 sérums - m =13 sérums/patient - médiane : 8 ans [0,4 - 14,5]



Cas clinique 2

Mademoiselle L, âgée de 22 ans, se présente aux urgences à 18h pour une polyarthralgie. Elle avait consulté dans le service de rhumatologie huit jours plus tôt pour une monoarthrite du poignet droit et une hospitalisation de jour à visée étiologique a été organisée il y a 3 jours.

Dans ses antécédents, vous notez :

- une bouche sèche
- un syndrome de Raynaud
- une paralysie faciale il y a un an
- une polyarthrite inexpliquée ayant récidivé deux fois les deux été passés.

A l'examen, elle pèse 44 Kg pour 1m53. Elle n'est pas fébrile et se trouve en bon état général.

L'auscultation cardiaque et pulmonaire est normale. L'examen rhumatologique est normal en dehors d'une limitation en fin de mouvement et d'un discret gonflement du poignet droit.

Le reste de l'examen clinique est normal.

Elle a eu les examens suivants:

VS: 42 mm/l ère h CRP: 6mg/l GB: 3400/mm³ PNN: 60%, Ly: 30%
Éosinophiles:4% Hb:12g/100ml VGM 89 µ³ Plaquettes: 156 000/mm³ TP:98% TCA:40/30
créatinine: 78 µmol/l

3- Quelles étiologies évoquez-vous?

1. Sarcôïdose
2. Lupus
3. Sclérodermie
4. Syndrome sec
5. Polymyosite
6. Angéïtes
7. La maladie de STILL
8. La maladie de Whipple
9. Le syndrome de BEHCET
10. Maladie périodique
11. Polychondrite atrophiante







Les critères SLICC 2012

(Systemic Lupus Collaborating Clinics)

Critères cliniques et biologiques

1. Lupus érythémateux cutané aigu
2. Lupus érythémateux cutané chronique
3. Ulcération orale
4. Alopécie non cicatricielle (cheveux fins, courts, cassés) en l'absence d'une autre cause
5. Synovite touchant plus que 2 articulations, caractérisées par un œdème ou un épanchement OU douleur de 2 ou plus articulations et raideur matinale pendant au moins 30 minutes
6. Sêrite
7. Atteinte rénale
8. Atteinte neurologique
9. Anémie hémolytique
10. Leucopénie ($< 4\,000/\text{mm}^3$ au moins 1 fois) en l'absence d'autre cause OU lymphopénie ($< 1\,00/\text{mm}^3$ au moins 1 fois) en l'absence d'autre cause
11. Thrombopénie ($< 100\,000/\text{mm}^3$ au moins 1 fois) en l'absence d'autre cause

Les critères SLICC 2012

(Systemic Lupus Collaborating Clinics)

Critères immunologiques

1. Anticorps anti-nucléaires au-dessus du seuil de référence du laboratoire
2. Anticorps anti-ADNdb au-dessus du seuil du laboratoire
3. Anticorps anti-Sm
4. Anticorps anti-phospholipide, positivité de l'un des tests suivants
 - a) Anti-coagulant
 - b) Fausse positivité d'un test réaginique de la syphilis
 - c) Taux moyen ou élevé d'anticorps anti-cardiolipides (IgG, IgA, IgM)
 - d) Anticorps anti-bêta 2 glycoprotéine 1 (IgG, IgA, IgM)
5. Abaissement du taux du complément (C3, C4, CH50)
6. Test de Coombs positif en l'absence d'anémie hémolytique

 Il faut ≥ 4 critères pour le diagnostic de LES : ≥ 1 critère clinique et 1 critère biologique ou une néphropathie et des ANA et/ou anti-ADNdb

Ces critères ont été validés sur un échantillon de malades lupiques et de sujets contrôles (ce que les critères ACR modifiés 1997 n'ont jamais été, contrairement aux critères ACR 1982).

Les critères SLICC sont plus sensibles mais moins spécifiques que les critères ACR.

Les critères sont cumulatifs et ne nécessitent pas d'être tous présents au même moment.













Les auto-anticorps pour le diagnostic de maladies auto-immunes systémiques... Que faut-il savoir ?

Si le premier bilan immunitaire révèle la présence d'auto-Ac anti-RNP et anti-Ro/SS-A.

- 1) Vous allez utiliser ces marqueurs pour conforter votre diagnostic sans avoir besoin de recontrôler ces marqueurs diagnostiques au cours de l'évolution.
- 2) Vous allez régulièrement recontrôler ses marqueurs diagnostiques au cours de l'évolution.
- 3) Vous complétez votre demande par une recherche d'anti-ADN natif et d'anti-nucléosome.
- 4) Vous pouvez compléter le bilan par le dosage du complément (CH50, C3, C4)
- 5) Vous recherchez une protéinurie

Réponse : 1, 3, 4... 5 !

Les auto-anticorps en pratique dans les maladies auto-immunes systémiques

- Comment les détecter en routine ?
- Comment les prescrire ?
- Quel est leur utilité ?

Les auto-anticorps en pratique



- ☐ **Anticorps anti-nucléaires (1 tube sec)**
 - ADN natif (*Crithidia Luciliae*, ELISA)
 - Chromatine/nucléosome (équivalent Farr)
 - Centromère, histones
- ☐ **Antigènes solubles (RNP, Sm, SSA, SSB, Jo₁, Scl 70)**
- ☐ **Anticorps spécifiques du lupus**
 - ☐ Anticorps anti-C1q, anti-actinine
 - ☐ Anticorps anti-ribosome
- ☐ **Anticorps spécifiques de la sclérodermie**
 - Anticorps anti-nucléaires (AAN)
 - Si AAN + (CENP-A, CENP-B, PM-Scl75, RNA PIII, U1-RNP, Th-To, Ku, PM Scl 100, Fibrillarin, NOR90, PDGFR)
- ☐ **Anticorps spécifiques de la polymyosite**
 - Anticorps anti-nucléaires (AAN)
 - Si AAN + (MDA5, TIFgamma, Ku, PM/Scl, Jo1, PL7, PL12, E1, SRP, SSA/Ro52KD, Mi2α, Mi2β, NXP2, SAE1, PM.Scl75, O, CN1A)
- ☐ **Anticorps anti-phospholipides**
 - ☐ cardiolipide
 - ☐ β2 glycoprotéine 1
 - ☐ phosphatidyl-éthanolamine
 - ☐ phosphatidyl-sérine-prothrombine
- ☐ **Anticorps anti-cellules endothéliales**
- ☐ **Sérologie rhumatoïde (1 tube sec)**
 - ☐ Facteurs rhumatoïdes (IgG humaine/turbidimétrie)
 - ☐ Facteurs rhumatoïdes (IgG lapin/ELISA)
 - ☐ Anticorps anti-kératine (filaggrine)
 - ☐ Anticorps anti-peptides cycliques citrulinés (CCP)
- ☐ **Anticorps anti-neuronaux :** *amphiphysine, CV2, PNMA2, Ri, Yo, Hu, Recoverine, SOX1, Titine, Zic4, GAD65, Tr.*
- ☐ **Anticorps anti-tissus**
 - ☐ mitochondries (M2)
 - ☐ réticulum endoplasmique (LKM1)
 - ☐ muscle lisse (actine, non-actine)
 - ☐ muscle strié
 - ☐ cellules pariétales de l'estomac
 - ☐ épiderme (SIC, MB)
- ☐ **Anticorps anti-hépatiques** (LKM1, LC1, SLA, M2a, F-actine, gp210, sp100)
- ☐ **Anticorps anti-facteur intrinsèque**
- ☐ **Anticorps spécifiques du diabète**
 - ☐ Ac anti-ilots de Langerhans, anti-GAD, anti-IA2
 - ☐ Ac anti-insuline
 - ☐ Ac anti-ZNT8
- ☐ **Anticorps anti-transglutaminase (IgA)**
- ☐ **Anticorps anti-membrane basale glomérulaire (anti-GBM)**
- ☐ **ANCA** (Ac anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles, MPO, PR3)
- ☐ **ASCA** (Anti-*Saccharomyces cerevisiae* antibodies)
- Complément**
 - ☐ Complément total (CH50) } (2 tubes EDTA)
 - ☐ C3 ☐ C4
 - ☐ C1q ☐ C2
 - ☐ C9 ☐ C3PA (Fact B) ☐ C5 } (1 tube sec avec gel)
 - ☐ Inhibiteur de la C1 estérase (quantitatif)
- ☐ **Complexes immuns circulants (1 tube sec à 37°C)**

Pour de nombreuses pathologies ...

Les auto-anticorps en pratique

Comment les détecter ?

- Stratégie en deux temps pour les anticorps anti-nucléaires :
 1. Dépistage systématique par immunofluorescence indirecte sur cellules Hep-2 :
 - Technique très sensible +++
 - Plus de 200 cibles identifiées
 - Différents aspects retrouvables : Homogène, moucheté, centromère, nucléolaires, cytoplasmique pour les principaux
 - Titre de positivité : 1/160ème ...

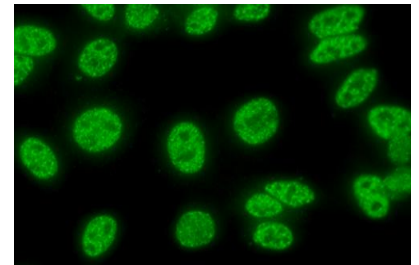
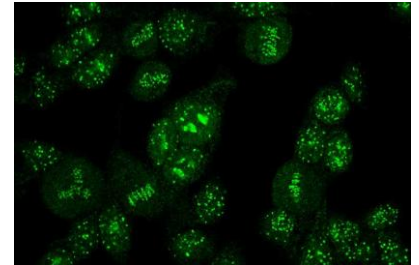


IFI négative

IFI positive



2. Identification des cibles des auto-anticorps :
 - Par technique ELISA (immuno-enzymatique) ou apparenté (chimiluminescence, luminex)
 - Par technique d'immunodot
 - Recherche systématique :
 - Anticorps anti-ADN natifs
 - Anticorps antigènes solubles
 - Non systématique : recherche des cibles plus rares

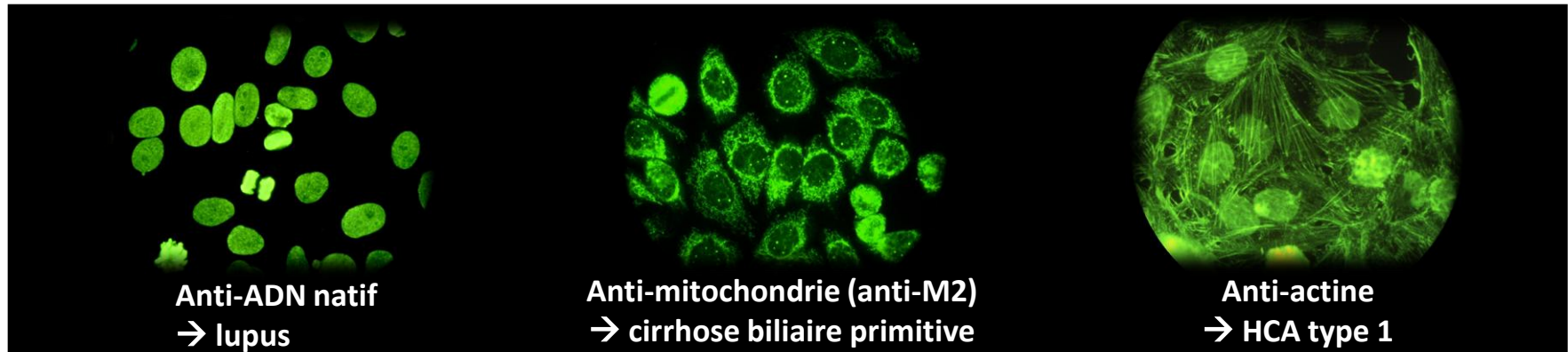


Les auto-anticorps en pratique

Le dépistage des anticorps anti-nucléaires

→ par immunofluorescence indirecte (cellule Hep 2)

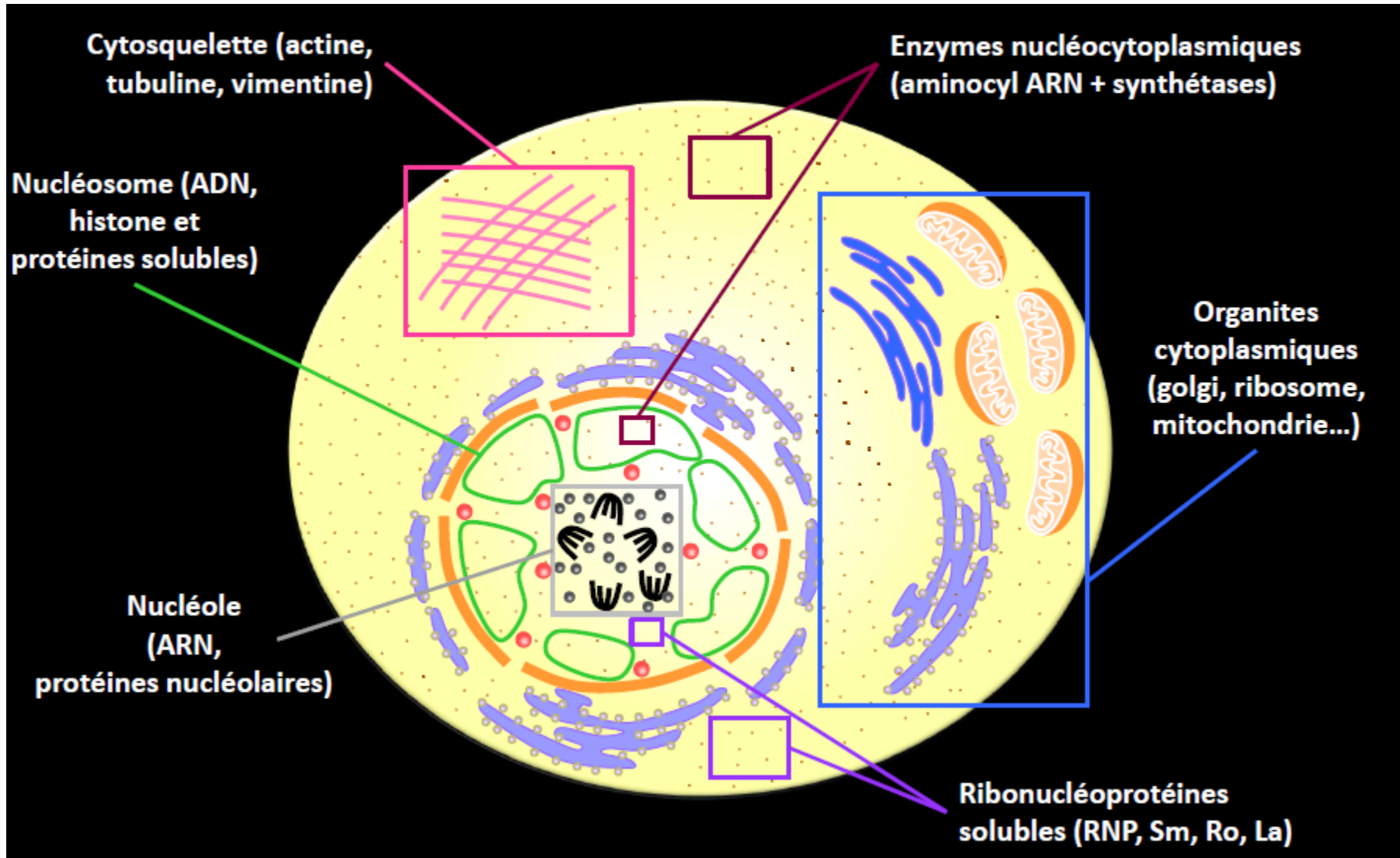
Avantages : tout auto-antigène présent dans le noyau ou le cytoplasme peut servir de cible à un auto-Ac connu ou inconnu → très sensible



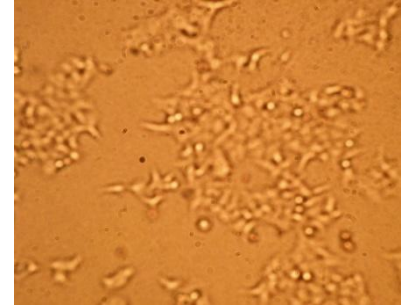
Limites :

- N'identifie pas formellement (sauf exception) la cible auto-antigénique → nécessité des techniques complémentaires
- Technique non automatisable très dépendante de "l'œil" du technicien
- Interférences possibles (effet de zone)
- Rares faux négatifs (anticorps anti-SSA)

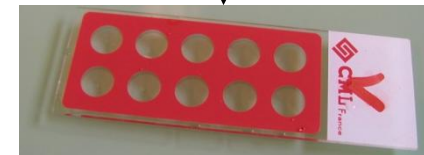
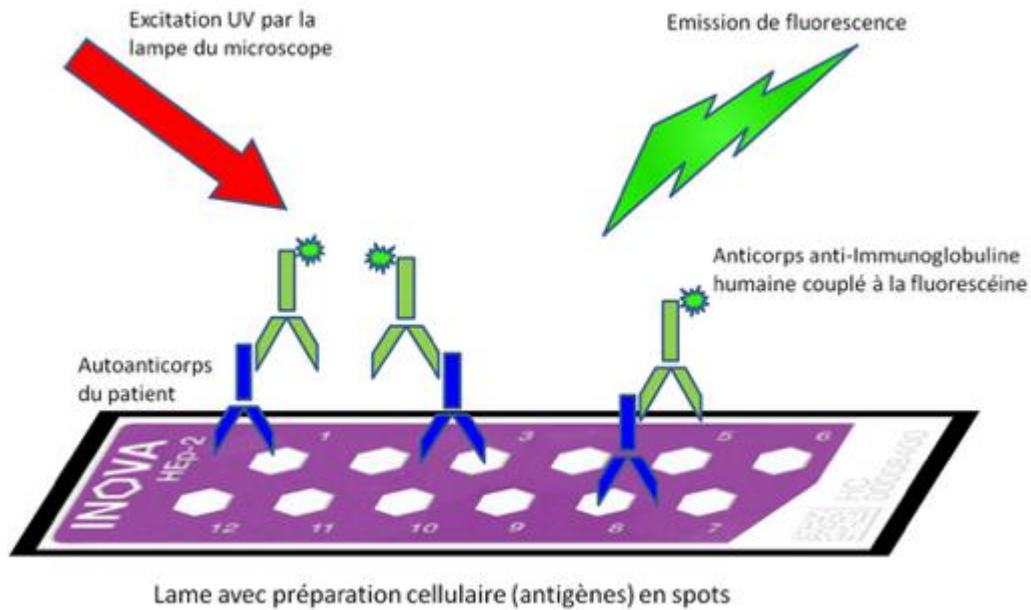
Les antigènes de la cellule



Réalisation des AAN



Culture de cellules HEP-2

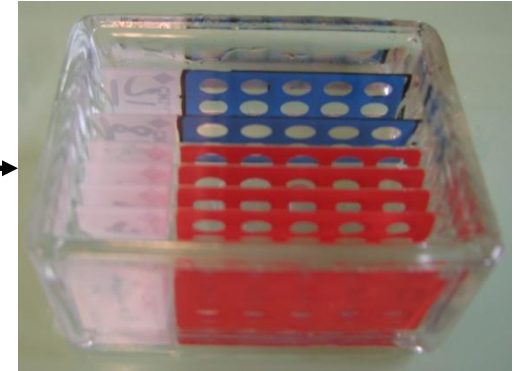
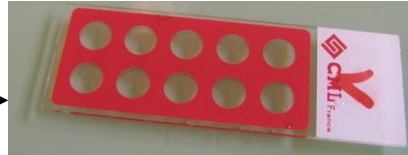


Dépôt des cellules sur lame

Réalisation des AAN



Prélèvement du sérum du patient



Etuves 5%CO₂, 37°C



Anti globuline
fluorescente

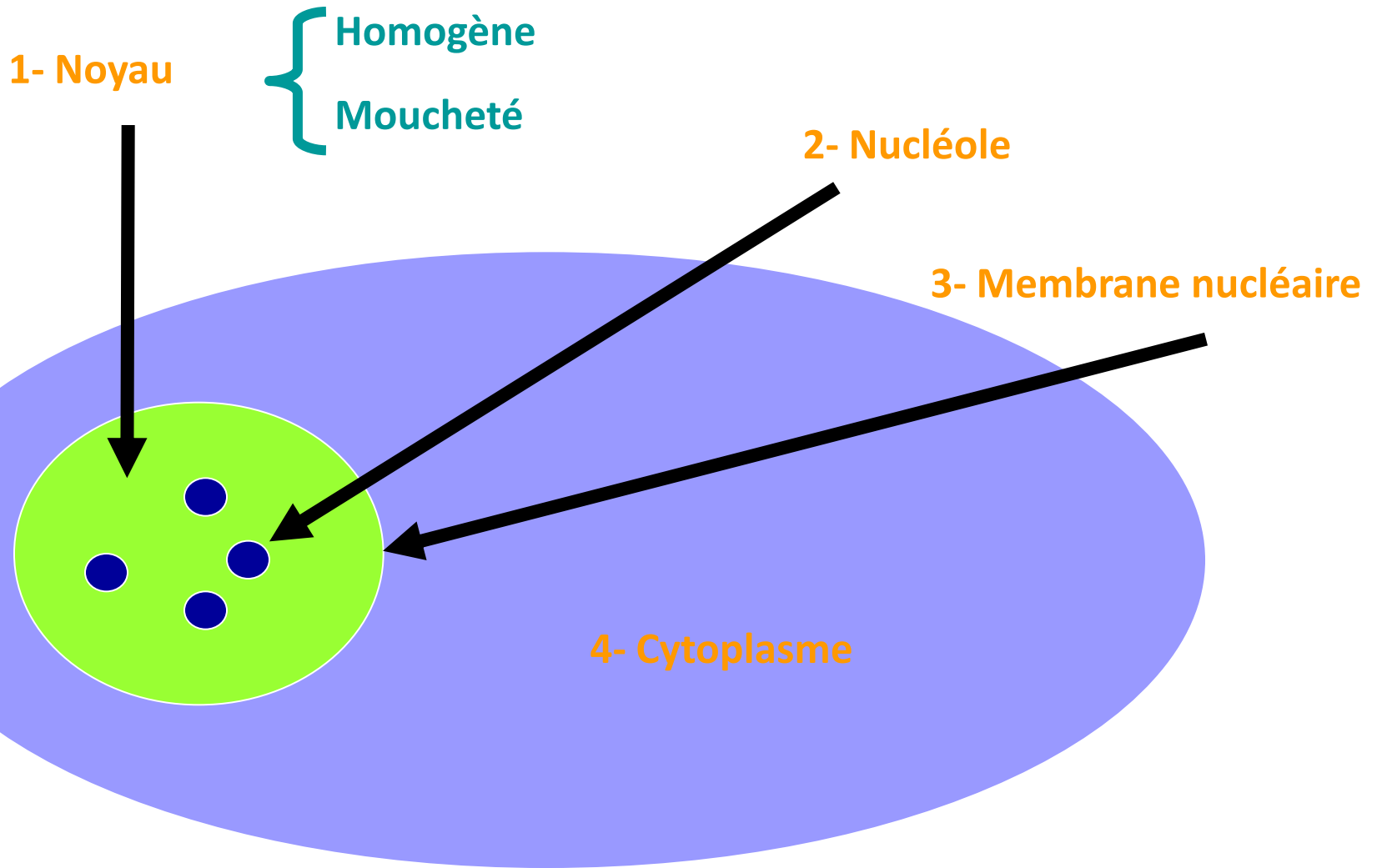


Fluo

Lecture par microscopie à fluorescence

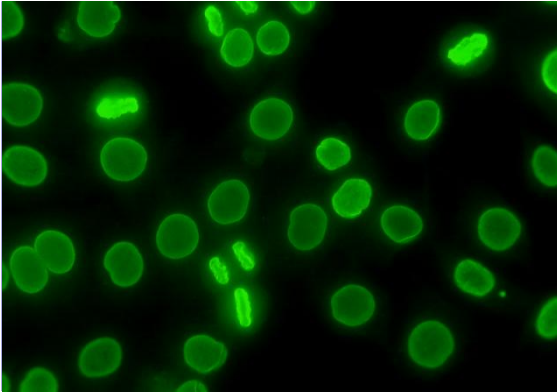


Les aspects des Anticorps Anti-nucléaire

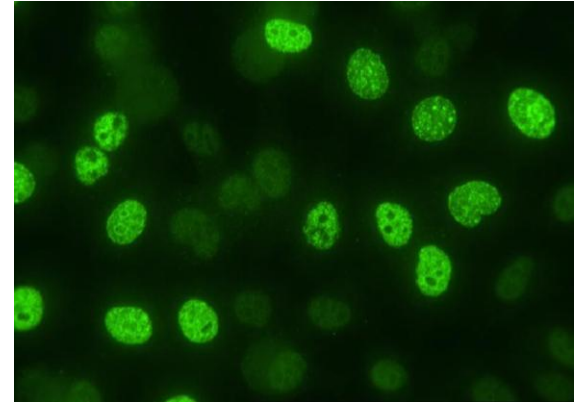


Antinucléaires de dépistage

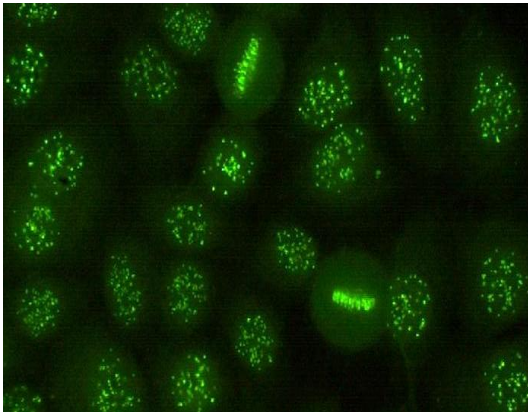
homogène



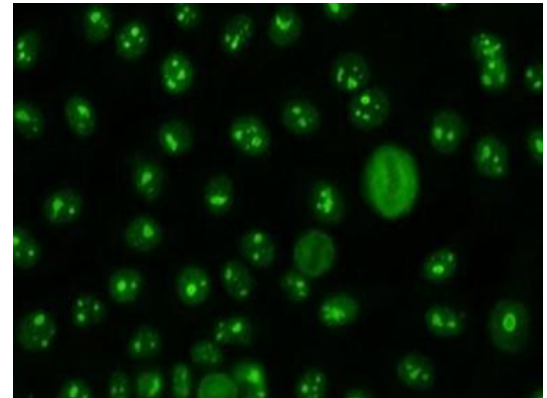
moucheté



centromère



nucléolaire



Anticorps Anti-nucléaires +

anti-ADN

- *Crithidia luciliae*
- test de Farr
- anti-dsADN (ELISA)
- (- anti-histones)

Antigènes solubles

Nucléaires

- SM
- RNP
- SSA
- SSB
- Scl70

Cytoplasmiques

- Jo-1

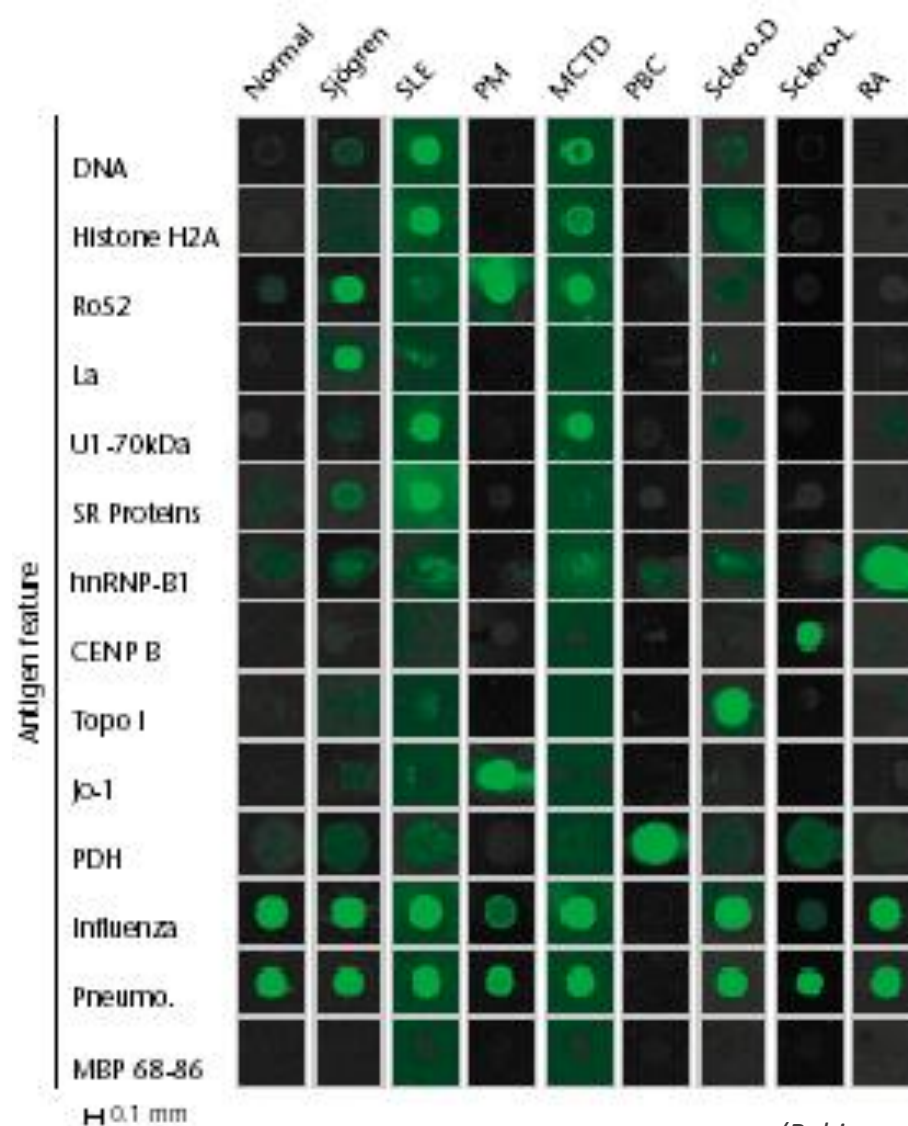
Autres

- ribosome
- actine
- PDH
- Mitochondries
-

Réalisé systématiquement par argument de fréquence
(et car remboursé ...)

Y penser selon le
contexte clinique
et la fluorescence
en IFI (MAI
spécifiques
d'organes)

Micropuces à auto-antigènes : puces "à connectivites"



(Robinson WH, Nat Medicine, 2002 Vol 8,3,295-301)

Micropuces à auto-antigènes : intérêts

- Large profil d'auto-anticorps (analyse en multiplex)
- 15000 caractères possibles sur 1,8cmx5,4cm
- Faible quantité d'Ag : 200 pg dans 1 nl → peu coûteux !
- Faible quantité de sérum 2 µl
- Auto-Ac détectés au ng/ml
- Identification des isotypes, sous classes d'immunoglobulines

Nouvelles technologies multiplex

- **Multiplex : N analytes détectés simultanément sur/dans un même support**

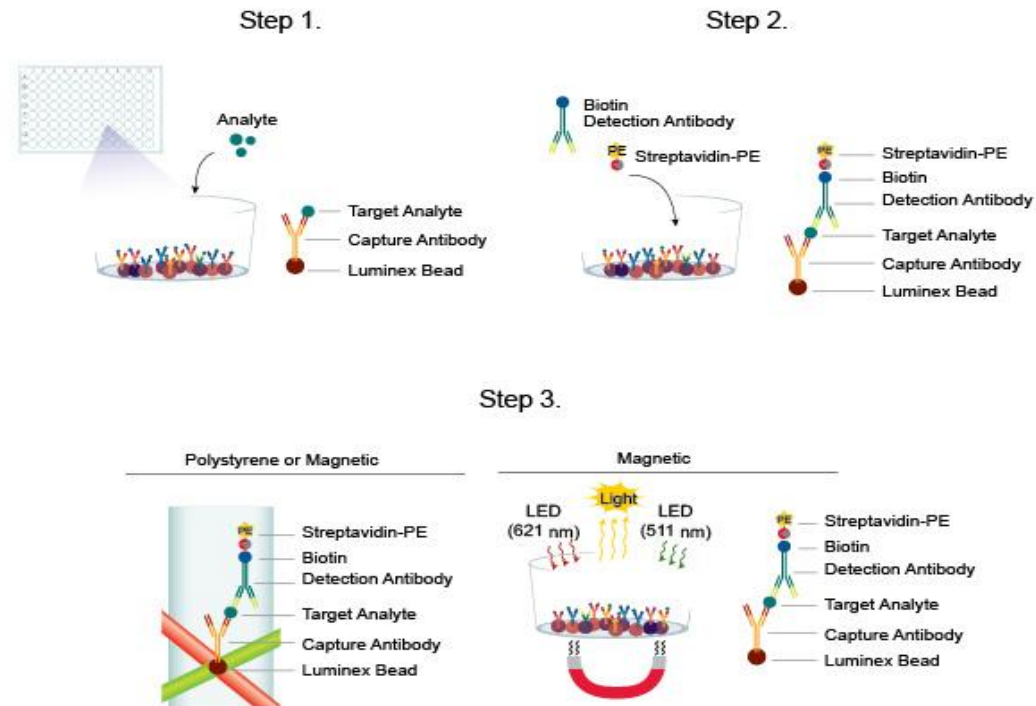


Potentiel d'applications énorme : cytokines, HLA, allergie, maladies génétiques...

Ex : Luminex : jusqu'à 100 analyses simultanées

Principes :

- Fluorimètre en flux : Luminex 100™
- Support : microbilles recouvertes d'Ag
- Colorées par deux molécules fluorescentes rouge et infra-rouge
- 10 niveaux de concentration → 100 billes codées différemment
- 1 autoAg ↔ 1 code de fluorescence



Les auto-anticorps en pratique

Quelle est leur utilité diagnostique ?

+

Spécificité

-

- Les anti-Sm sont quasi spécifiques du lupus
- Les anti-ADN natifs sont très spécifiques du lupus mais parfois induits (ex : anti-TNF) ou présents dans d'autres MAI (HAI)
- Les anti-RNP sont partagés par différentes connectivites (lupus, Sjögren, myosite...)
- Les anti-Ro (SS-A) et La (SS-B) sont partagés par le lupus et le Sjögren
- Les ANCA sont hétérogènes avec certains (anti-PR3, anti-MPO) spécifiques des vascularites mais inductibles par différents phénomènes (infections, toxiques, médicaments...)
- Les anti-phospholipides sont inductibles par de nombreux phénomènes (infections, médicaments, toxiques...)

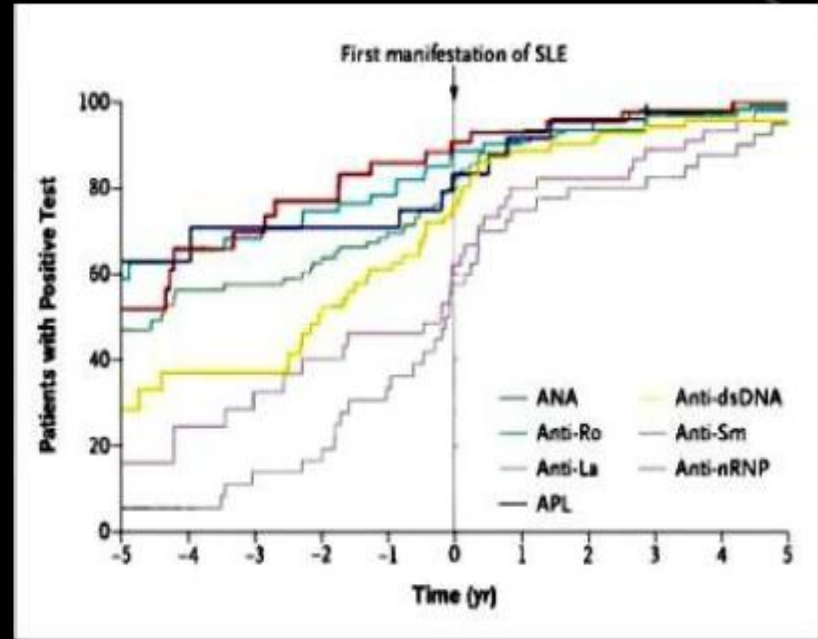
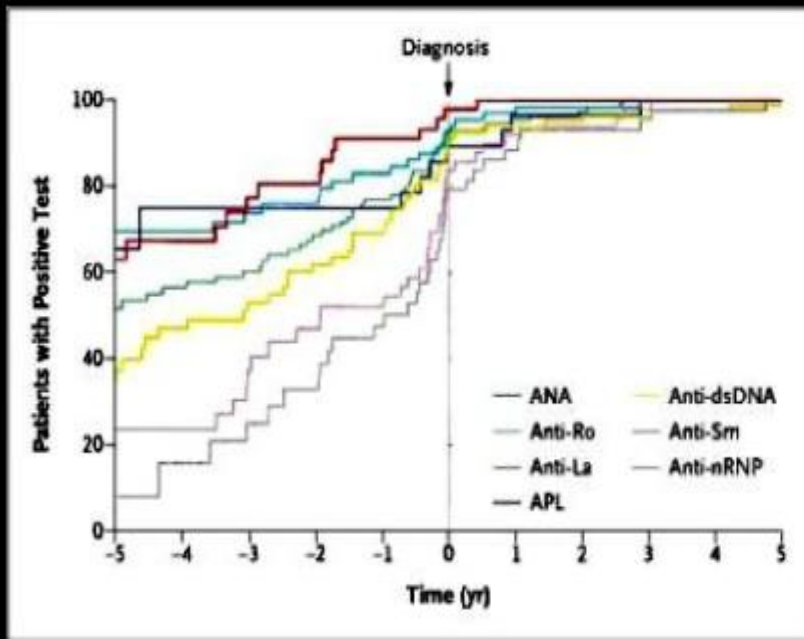
Les auto-anticorps en pratique

Quelle est leur utilité diagnostique ?

⚠ Les auto-Ac peuvent précéder l'apparition de la maladie auto-immune

Fréquence de chaque Ac avant le diagnostic
parmi les malades qui l'ont développé après le
diagnostic

Fréquence de chaque Ac avant le premier signe
clinique parmi les malades qui l'ont développé
après le diagnostic



Les auto-anticorps en pratique

Quelle est leur utilité pronostique ?

- Marqueur "épiphénomène" de la maladie

 - "associé" à la réponse immunitaire

 - "induit" par des lésions

⇒ *Pas d'intérêt pronostique → inutile de les réaliser pour le suivi*

Ex : anti-ENA (anti-Ro, La, Sm, RNP...)

Les auto-anticorps en pratique

Quelle est leur utilité pronostique ?

- Marqueur "lésionnel" de la maladie
→ Acteur de la lésion

⇒ Intérêt pronostique → utile pour le suivi (activité globale, lésion spécifique)

Ex : Anti-ADN natif dans le lupus, ANCA dans les vascularites, auto-Ac "tissus" dans la myasthénie, les thyroïdites, les cytopénies...

Les auto-anticorps en pratique

Comment les prescrire ? L'ordonnance pour le biologiste

- Ex : anticorps anti-nucléaire : dépistage et identification
 - le biologiste peut prendre l'initiative de faire des identifications spécifiques en fonction de résultats du dépistage (dans le cadre de la nomenclature) : importance d'éventuels renseignements cliniques
 - Vous pouvez préciser éventuellement une cible (ex : anti-Ro (SS-A) ou anti-ADNn)

Les auto-anticorps en pratique



B = 0.27ct

Combien ça coute ? Qu'est-ce qui est remboursé ?

MAI non spécifiques d'organes :

- **AAN** : **Dépistage = B40 = 10,80 €**
 - Identification des anti-ADN = B70
 - Identification des ENA : B70 x 2
 - Anti-membranes nucléaires décelés sur IFI AAN (contexte hépatopathies) : B70 x 2
 - Autres identifications → BHN !
- **ANCA** : IFI B40 et ELISA B70
- **Sérologie anti-phospholipides** : B68
- **Anti-CCP** : B57
- **Facteur rhumatoïde** : B33 (x 2)

Les auto-anticorps en pratique



B = 0.27ct

Combien ça coute ? Qu'est-ce qui est remboursé ?

MAI spécifiques d'organes :

- **Hépatopathies** : dépistage par IFI sur coupe de triple substrat associant trois organes (rein, foie, estomac) : B40
 - Identification des cibles : muscles lisses = B40
 - Anti-actine : B70
 - Anti-mitochondries sur dot : B180
 - LKM/cytosol : B40
- **Maladie coeliaque** :
 - Anti-transglutaminase de classe IgA = B58 (IgG si déficit prouvé en IgA)
 - Anti-endomysium IgA en deuxième intention B40 (IgG si déficit prouvé en IgA)
- **Diabète** :
 - anti-ilot = B40
 - Anti-IA2 = B120
 - Anti-GAD = B120,
 - Anti-insuline = B150,
 - Anti-ZnT8 en BHN (hôpital)
- **Autre** : BHN (myosites et sclérodermies)

Glandes surrénales

- 1489 **Titration des autoanticorps antisurrénale** B 40
par immunofluorescence indirecte.

Tractus digestif

- 1490 **Titration des autoanticorps anticellules pariétales de l'estomac** B 40
par immunofluorescence indirecte.
- 1491 **Recherche des autoanticorps antifacteur intrinsèque** B 70
par une méthode utilisant un marqueur isotopique ou non.

Système nerveux neuromusculaire

- 1492 **Recherche des autoanticorps antirécepteur de l'acétylcholine** B 100

Autres

- 1493 **Titration des autoanticorps antimembrane basale d'épithélium malpighien** B 40
- 1494 **Titration des autoanticorps antistance intercellulaire d'épithélium malpighien** B 40
par immunofluorescence indirecte.
- 1495 **Titration des autoanticorps anticellules productrices de stéroïdes** B 40
par immunofluorescence indirecte.
- Titration des autoanticorps antimembrane basale glomérulaire par :**
- 1496 immunofluorescence indirecte B 40
- 1497 ou méthode avec marqueur B 70
- 1498 **Titration des autoanticorps spécifiques d'organes** B 40
par immunofluorescence indirecte sur substrat adapté.

- La patiente a fait 4 fausses-couches précoces, a eu 1 enfant né prématuré avec un retard de croissance intra-utérin
- Que suspectez-vous ?

Comment les prescrire ? L'ordonnance pour le biologiste

→ Le biologiste peut faire l'ensemble des tests ou pas

→ Préciser le détail +++

- Anticoagulant circulant (test d'hémostase)
- Anti-cardiolipine (IgG et M)
- Anti-bêta 2 glycoprotéine 1 (IgG et M)

→ Plusieurs facteurs peuvent fausser une sérologie anti-phospholipide : en cas de positivité, un recontrôle à 12 semaines est nécessaire

- Le patient se plaint de faiblesse musculaire et de myalgies d'effort depuis 1 mois
- Il n'arrive pas à se relever de la position assise sans s'aider des bras
- Quel dosage biologique demandez-vous ?

Quelles sont les causes d'élévation des CPK ?



- Et les maladies musculaires...

Les auto-Ac spécifiques des myopathies inflammatoires

Deux aspects essentiels détectables sur cellules Hep-2

— Les aspects nucléaires et/ou nucléolaires*

- Anti-Mi-2
- Anti-Pm-Scl*
- Anti-KU*
- Anti-U1 RNP
- Anti-Ro 52 KDa

Confirmation avec
identification des cibles sur
immunodot myosite

— Les aspects cytoplasmiques

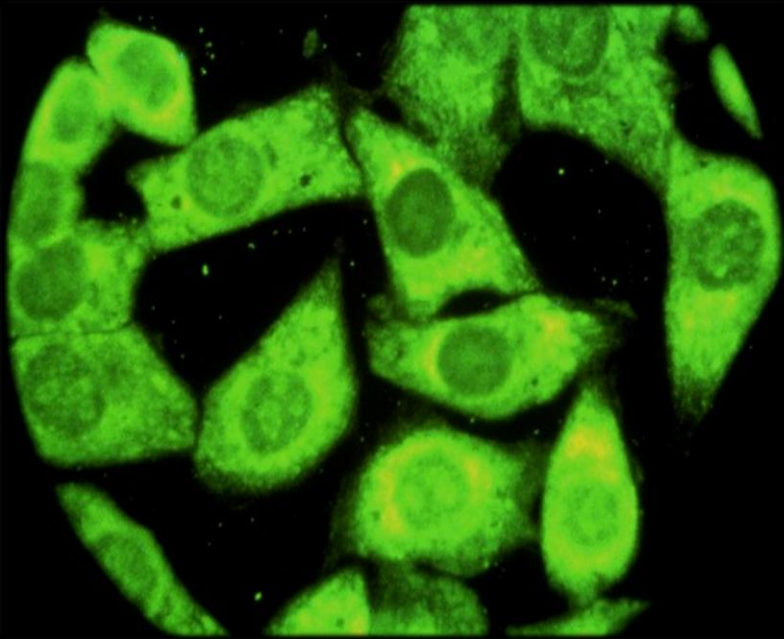
- Anti-t-RNA synthétase, anti-Jo-1 (PL1), PL7, PL12, EJ, OJ, JS, KS, ZO, YRS
- Anti-SRP
- Anti-Mas
- Anti-56kD

 Anti-ribosome à ne pas confondre avec des auto-Ac anti-cytoplasme
anti-RNA synthétases

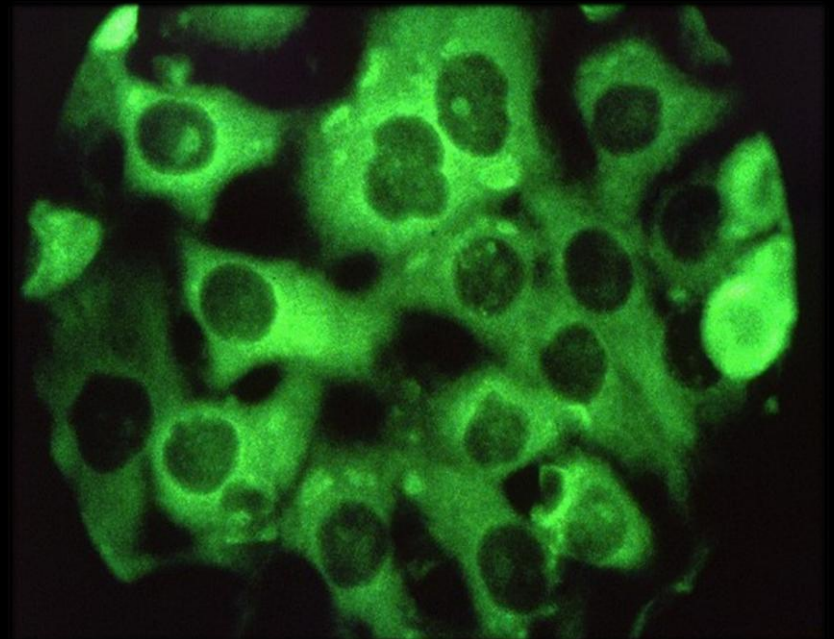
Les auto-Ac spécifiques des myopathies inflammatoires

Comment les détecter ?

Dépistage en IFI Hep-2



Anti-ribosomes



Anti-PL7

Les auto-Ac spécifiques des myopathies inflammatoires

Intérêt diagnostique ?

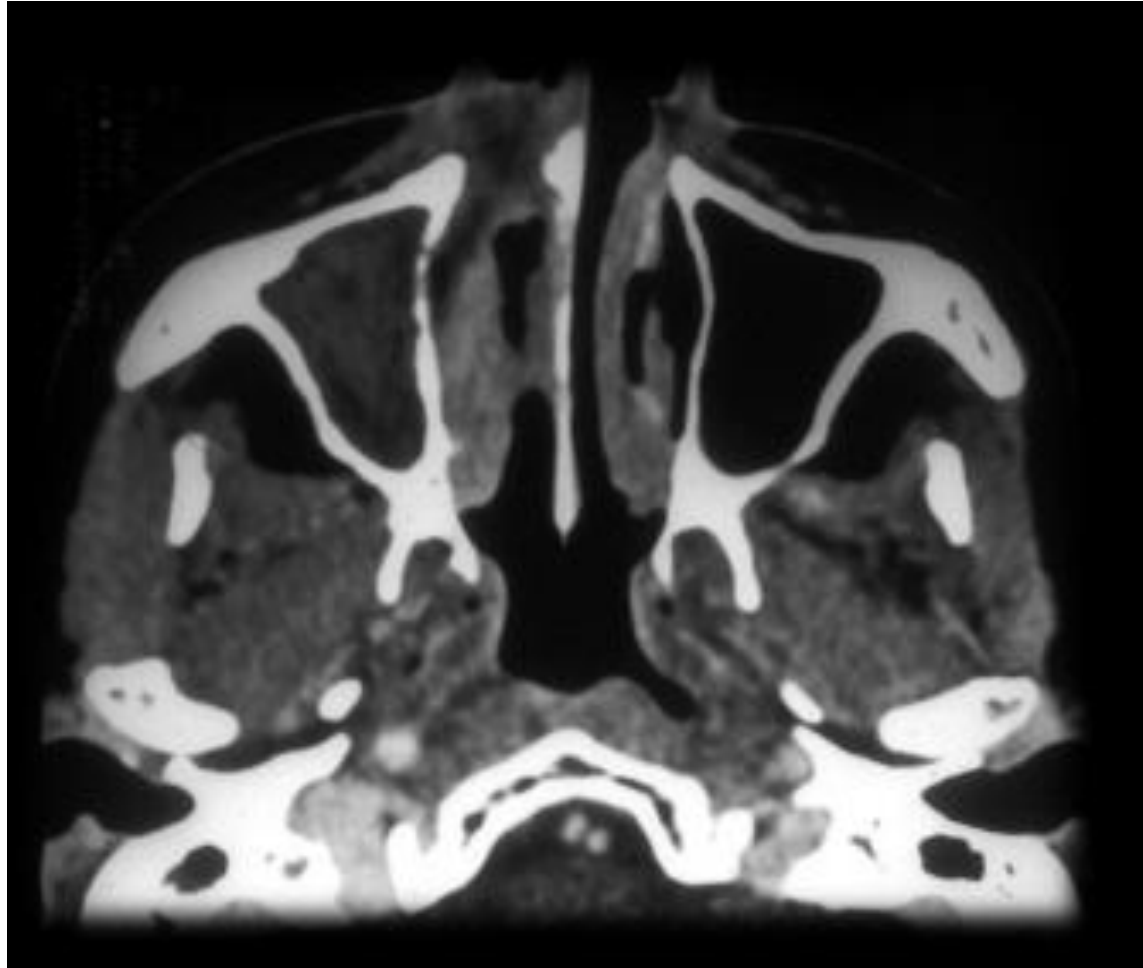
- Auto-Ac : 40 à 60% des myosites
- Les polymyosites
 - 15 à 30% avec anti-Jo-1
 - < 5% avec autres anti-t-RNA synthétases
 - < 5% avec autres auto-Ac
- Les dermatomyosites
 - 10 à 20% avec Jo-1
 - 5 à 20% avec des auto-Ac très spécifiques des DM (Mi-2, TIF1- γ , CADM p140, MJ (NXP-2), SAE ...)
- Les myosites à inclusion : pas d'auto-Ac sauf exception (Jo-1, Pm-Scl)

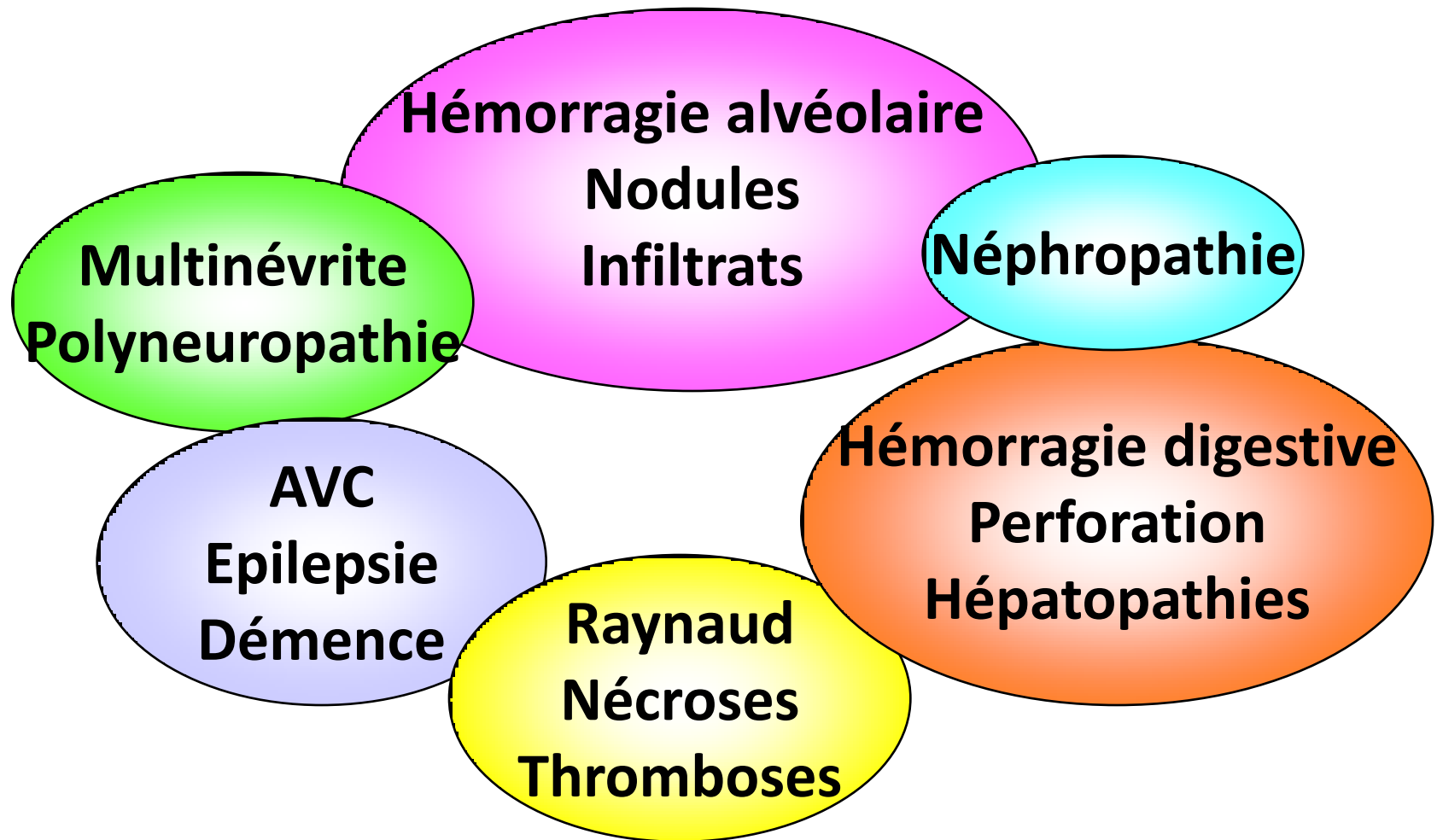
- Vous découvrez d'autres lésions...



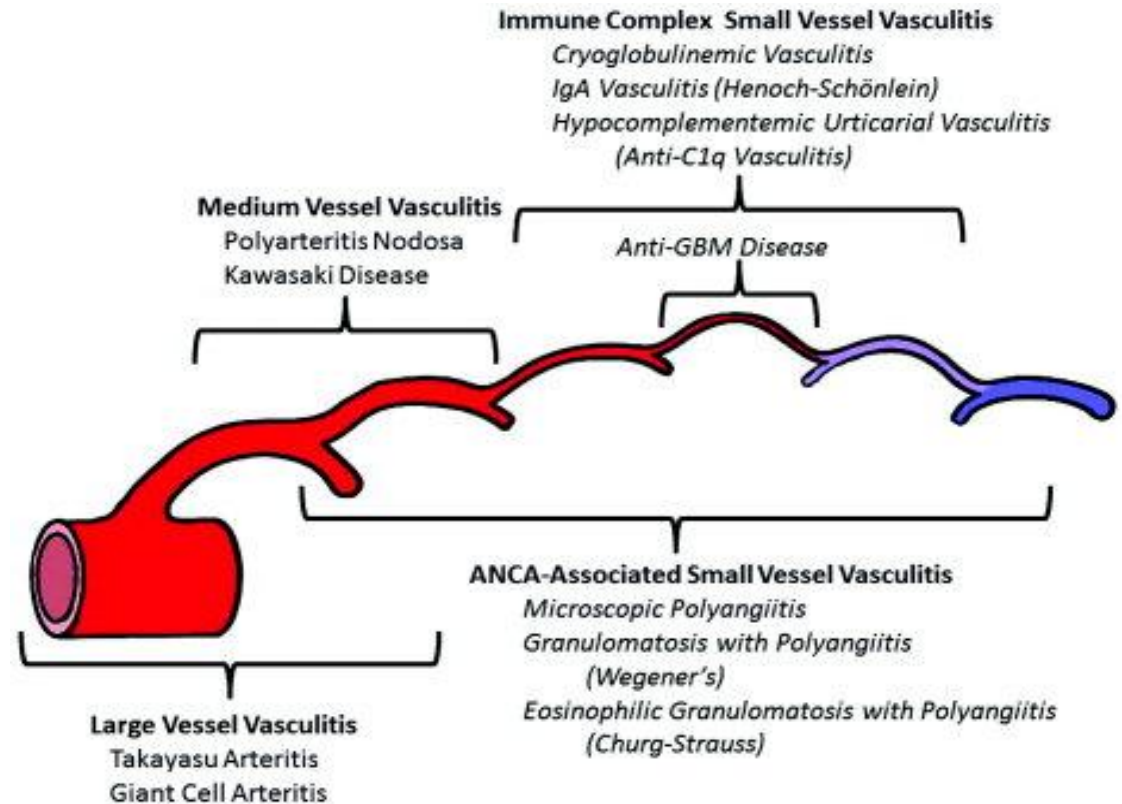
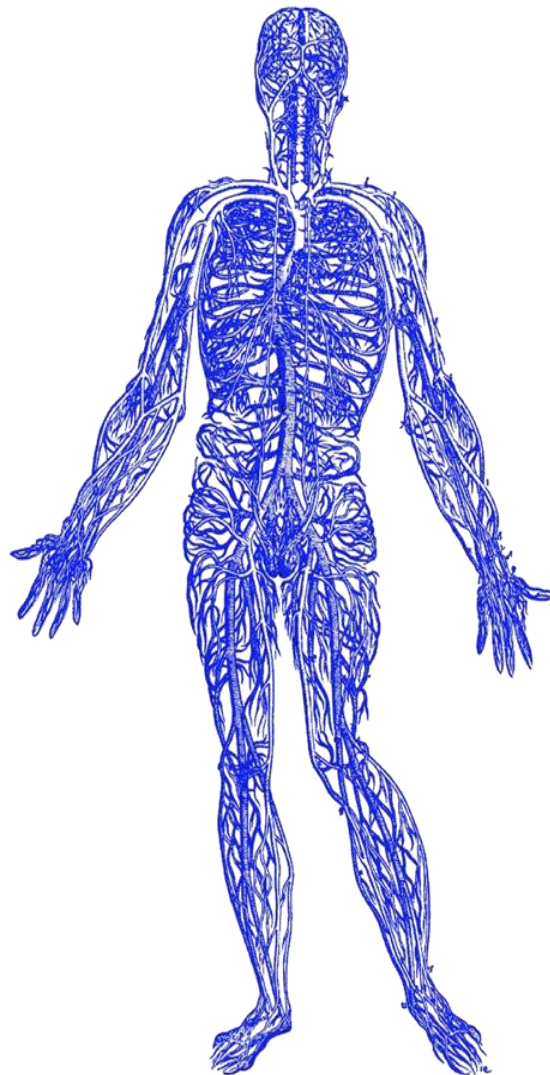






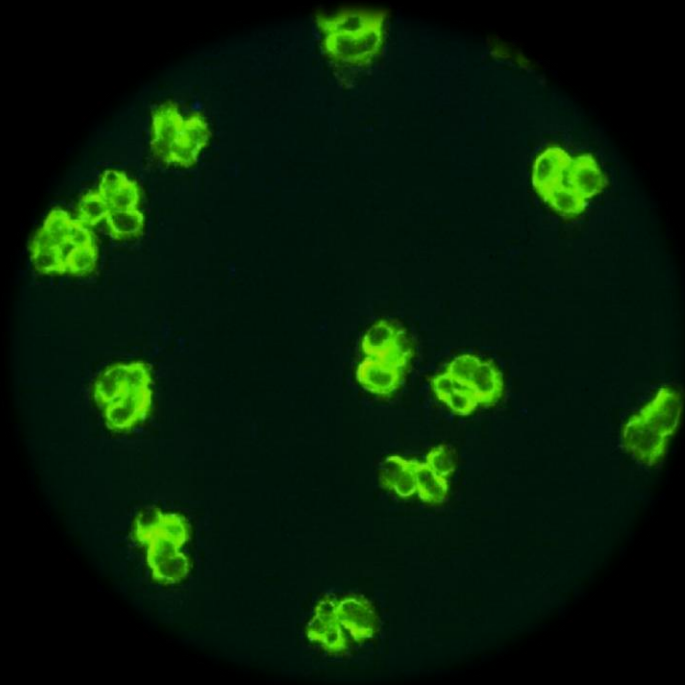


Savoir évoquer et diagnostiquer une vascularite

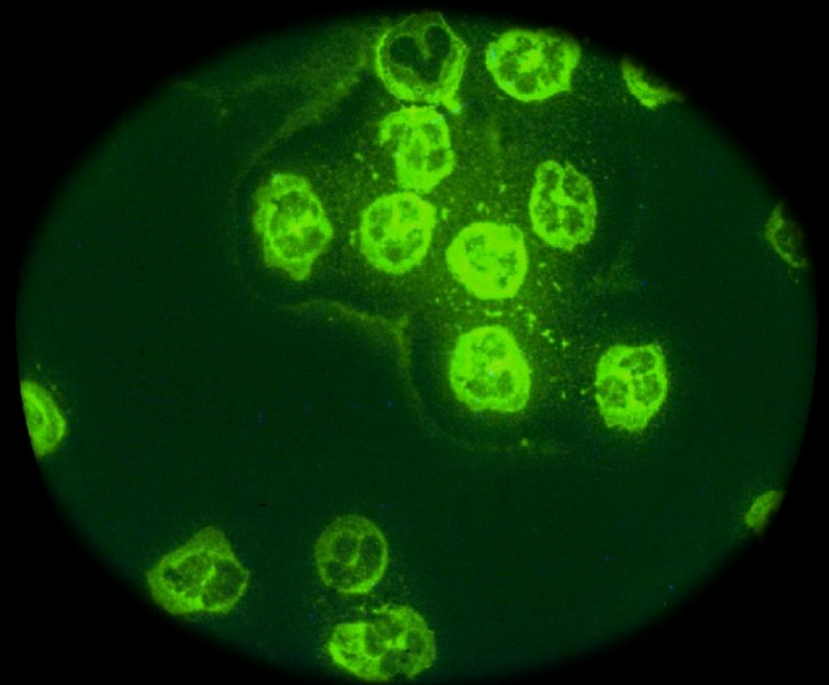


Critères de Chapel Hill 2012

Les ANCA : le dépistage en immunofluorescence sur des frottis de polynucléaires humains fixés à l'éthanol



p-ANCA (périnucléaire)
→ souvent anti-MPO



c-ANCA (cytoplasmique)
→ souvent anti-PR3

Les marqueurs des vascularites : les ANCA

Prévalence des anticytoplasmes des polynucléaires (ANCA) dans les principales vascularites systémiques

Vascularites	Anti-PR3 (%)	Anti-MPO (%)
GPA (granulomatosis with polyangiitis) (Wegener)	80	10
MPA (microscopic polyangiitis)	15	60
Polyangéite classique (PAN)	< 5	< 5
EGPA (Eosinophilic granulomatosis with polyangiitis) (Churg et Strauss)	5	35
Maladie de Horton	0	0
Purpura rhumatoïde	0	0
Thromboangéite de Buerger	0	0
Maladie de Behçet	0	0

Autoanticorps = maladie autoimmune ?

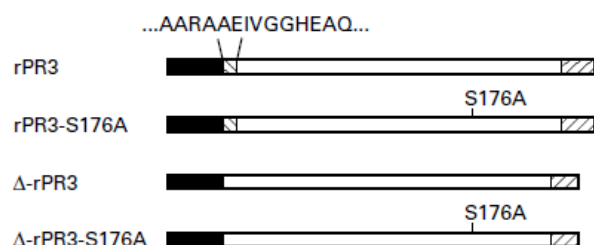
Les pièges diagnostiques

- L'auto-immunité "physiologique" → "amplifiée" lors d'une réaction inflammatoire/infectieuse
 - 10% des sujets âgés sains ont des facteurs rhumatoïdes
 - 30% des endocardites ont des facteurs rhumatoïdes et/ou des ANCA (anti-PR3)
- L'auto-immunité "induite"
 - Près de 200 médicaments peuvent être inducteurs d'auto-anticorps
 - anti-épileptique, anti-HTA (β bloquant), immunomodulateur (anti-TNF, salazopyrine)
- L'auto-immunité "paranéoplasique"
 - 5 à 20% des lymphoproliférations B produisent un auto-anticorps
 - anti-MAG et neuropathie
 - anti-GR et anémie hémolytique (Coombs +)
 - AAN type PCNA → faire rechercher un cancer
 - Anticorps anti-onconeuronaux → syndrome paranéoplasique (manifestations touchant le SNC et/ou le SNP)
 - Auto-immunité bulleuse paranéoplasique (anticorps anti-plakines)

Autoreactive B cells escape peripheral tolerance checkpoints in patients with PR3-ANCA associated vasculitis

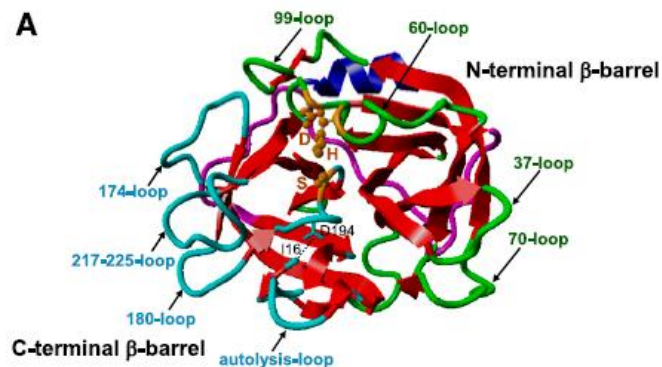


Labelling of recombinant PR3

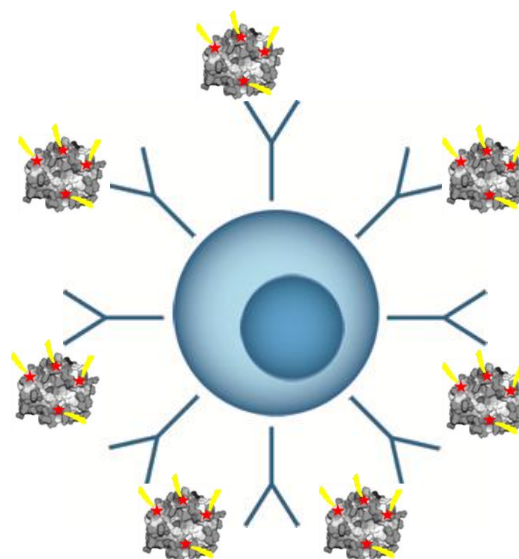
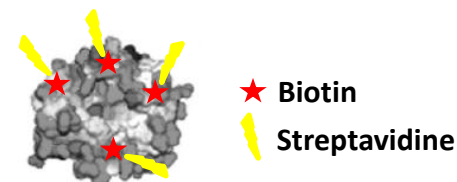
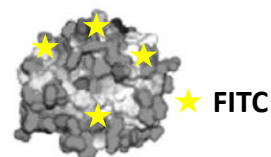


- signal peptide
- ▨ N-terminal propeptide
- mature protein
- ▨ C-terminal propeptide

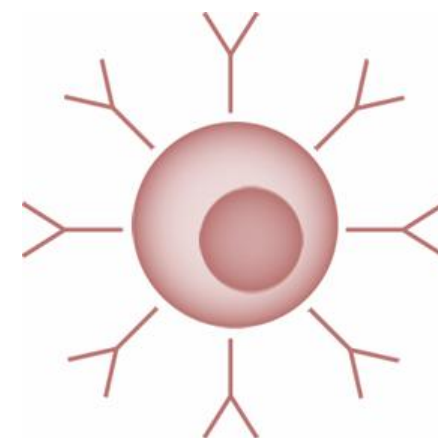
Sun et al, Clin Exp Immunol. 1998



Korkmaz et al, Pharmacol Rev. 2016



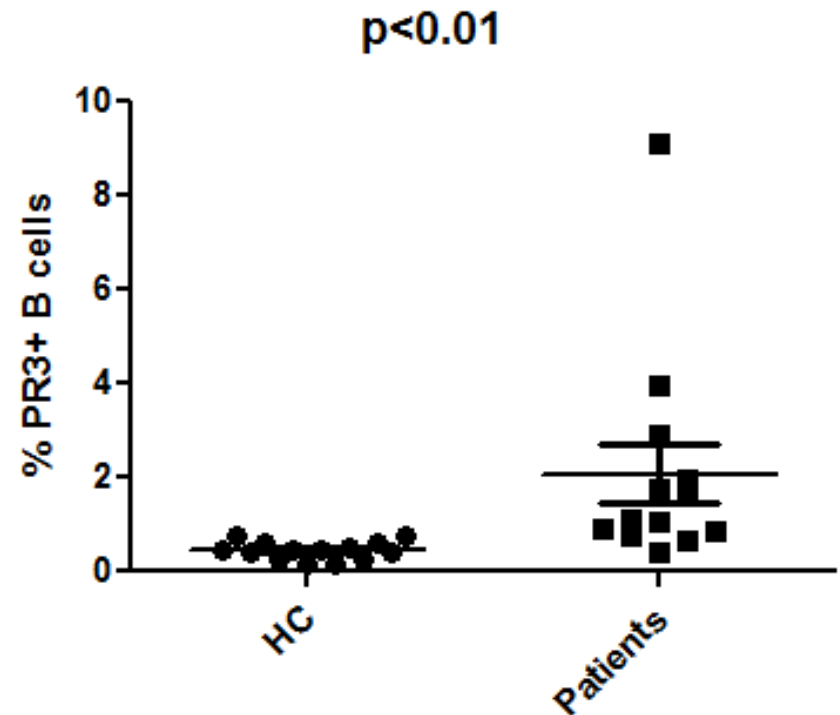
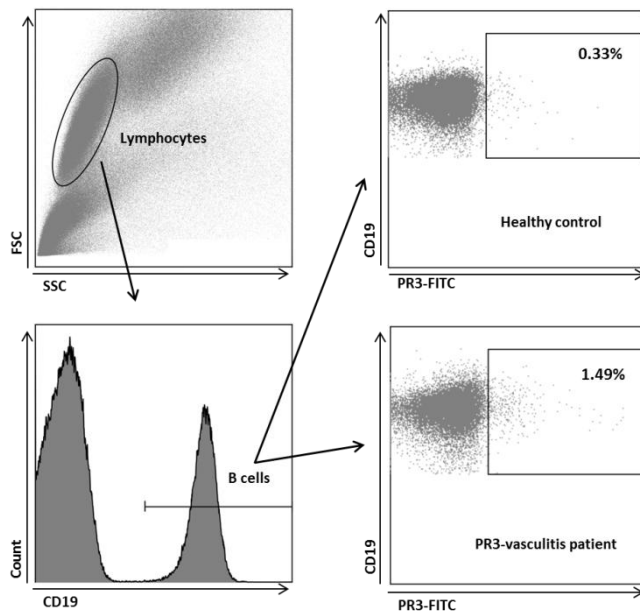
PR3-specific B cell



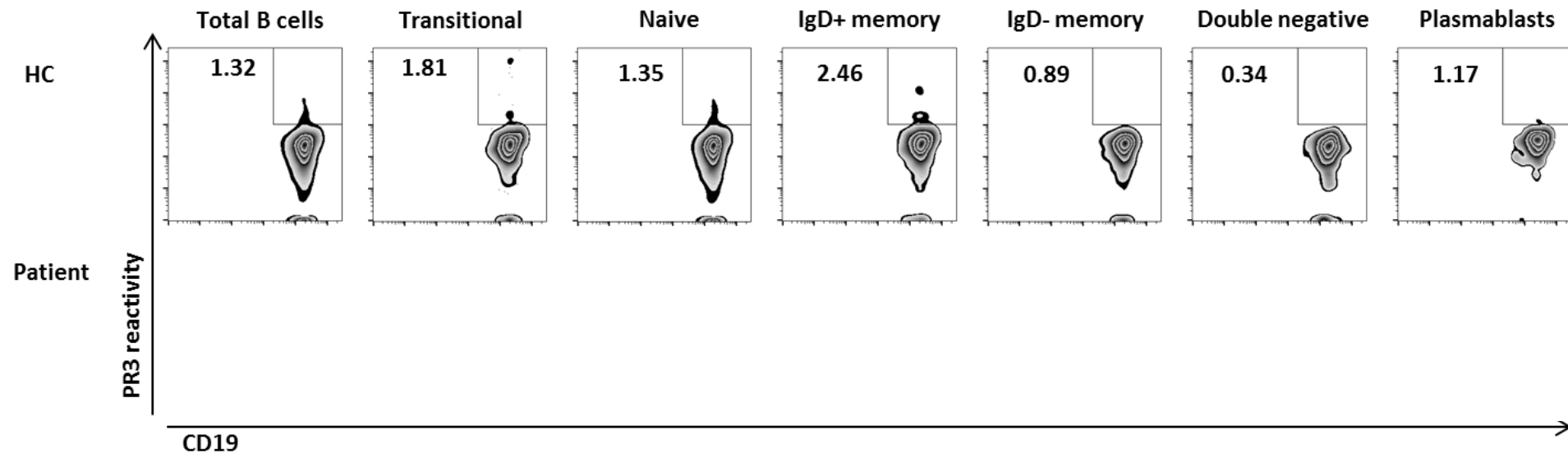
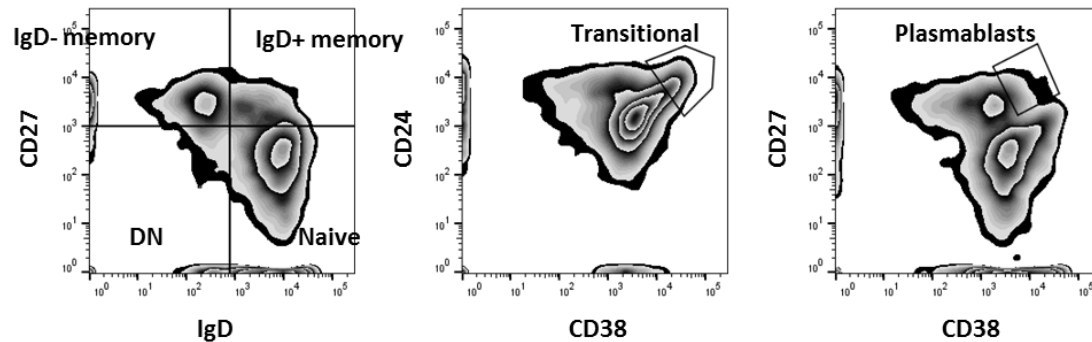
Other specificity B cell

Detection of PR3-specific B cells in patients and controls

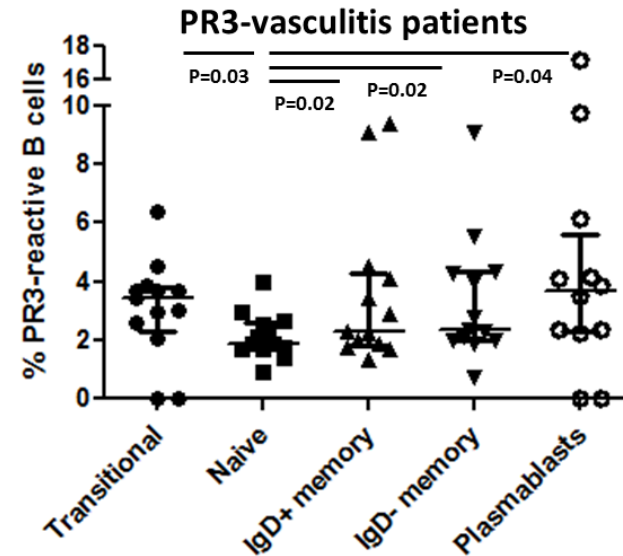
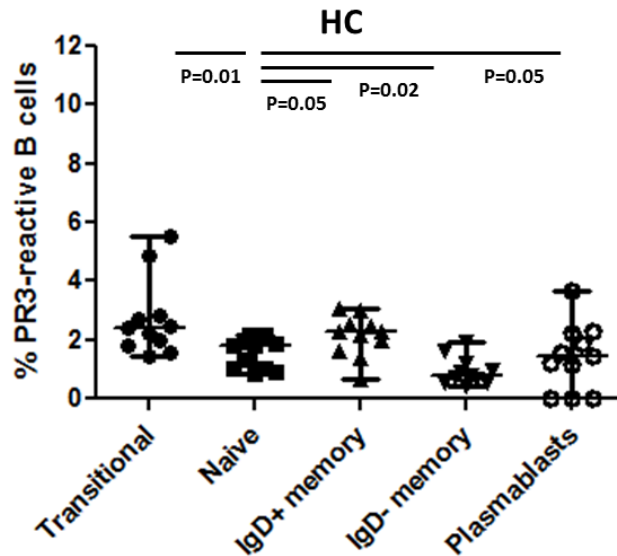
- 13 patients with PR3-AAV
- 14 HCs
- Purification of PBMCs, CD19/PR3 double staining, FACS analysis



PR3-specific B cells escape peripheral tolerance checkpoints in patients



PR3-specific B cells escape peripheral tolerance checkpoints in patients



Au final

- Polyarthrite nue :
 - Facteurs rhumatoïdes, anti-CCP, facteurs anti-nucléaires
- Suspicion de connectivite
 - Protéinurie, CPK
- Suspicion de vascularite
 - Hématurie, protéinurie
 - ANCA
 - Avis diagnostique en urgence ++