



Pôle de Biologie Pathologie Génétique

Biologie Spécialisée CHRU de Lille

//

28 septembre 2012

PRE-ANALYTIQUE

- **Acide citrique urinaire** : 5 ml des urines de 24h sans acidification (préciser impérativement la diurèse).
- **Acide oxalique urinaire** : 5 ml des urines de 24h avec acidification (préciser impérativement la diurèse).

Le dosage de **l'acide oxalique urinaire** s'effectue sur des urines de 24h qui doivent être conservées au réfrigérateur.

L'acidification des urines se fait au laboratoire préleveur : additionner de l'HCL (12N) pour obtenir un PH compris entre 2 et 3 (afin de bloquer la conversion de l'acide ascorbique en oxalate).

Bien homogénéiser la totalité des urines de 24h acidifiées avant l'aliquotage (pour éviter le dépôt de cristaux d'oxalates sur les parois).

Si ces conditions ne sont pas respectées, les urines ne seront pas techniquées.

ANALYSES :

- **Carboxyhémoglobine** :
 - Prélever 1 tube de 5ml de sang total hépariné, entièrement rempli et non centrifugé
 - Transmettre très rapidement (<24h) à température ambiante
 - Tarifications : **B35 code 1680**
- **Méthémoglobine** :
 - Prélever 1 tube de 5ml de sang total hépariné, entièrement rempli et non centrifugé
 - Transmettre rapidement (<72h) à température ambiante
 - Tarifications : **B25 code 0559**

Erratum

PRESCRIPTION

- Pour les demandes de **sérologies de Leptospirose, Tularémie, Histoplasmosse**, il est impératif de **joindre la fiche de renseignements cliniques** que vous pouvez télécharger sur le site du Pôle de Biologie Pathologie Génétique à l'adresse suivante <http://biologiepathologie.chru-lille.fr/feuilles-prescription/I08521.html> ou auprès du secrétariat médical :
☎ 03 20 444 555 📠 03 20 44 69 62
- Dans le cadre de la recherche du **Neuroblastome** en **pédiatrie et afin d'optimiser le diagnostic**, il convient, lors de l'envoi des urines des 24h acidifiées, de préciser sur la demande destinée au laboratoire du CHU de Lille, les analyses suivantes :
 - **Catécholamines urinaires**
 - **Acide Vanyl mandélique (AVM)**
 - **Acide Homovanillique (HVA)**

ACTUALITE MEDICALE

POLYARTHRITE RHUMATOÏDE : La biologie en question ?



POLYARTHRITE RHUMATOÏDE

La biologie en question ?

Dr Séverine Brabant, Dr Sylvain Dubucquoi
Institut d'Immunologie
Pôle de Biologie Pathologie Génétique, CHRU de Lille



LA CLINIQUE

La PR touche 0,53% de la population française (3 femmes pour un homme), avec un pic de fréquence vers 40-60 ans. Sa cause est inconnue mais des facteurs génétiques (HLA-DRB1) et environnementaux : toxiques (relation entre tabac et anticorps anti-protéines citrullinées (ACPA) positifs) ou infectieux (EBV) seraient impliqués. Elle débute le plus souvent par une oligo-arthrite distale (70% des cas) mains/poignets plus rarement chevilles/pieds. Une tendinite ou une ténosynovite associées ont généralement une bonne valeur diagnostique. En règle générale, la PR évolue en quelques mois (d'une seule tenue ou par des poussées successives) vers un tableau de polyarthrite. Les grosses articulations (hanches par exemple) et le rachis sont le plus souvent respectés.

Au stade de PR évoluée, le diagnostic peut être posé en présence d'érosions articulaires sur les radiographies. Parfois un syndrome sec peut être trouvé (SSA négatif dans 95% des cas), **A ce stade, toutefois, les lésions destructrices sont irréversibles malgré les traitements mis en œuvre. La douleur et le handicap persistant malgré le contrôle du processus inflammatoire articulaire relèvent alors d'une prise en charge en kinésithérapie et en ergothérapie.**

Les diagnostics différentiels de la PR, se posent surtout au début des manifestations cliniques : devant une atteinte polyarticulaire se discutent une polyarthrite d'origine virale, des manifestations articulaires de l'endocardite d'Osler. Devant un début monoarticulaire, le clinicien peut évoquer une crise de goutte ou une chondrocalcinose articulaire, une arthrite infectieuse décapitée par un traitement antibiotique. Ensuite devant une polyarthrite non destructrice, il convient d'éliminer une connectivite (notamment un lupus, hors le FR est positif dans 20% des LED), un syndrome de Sjögren primitif. La pseudopolyarthrite rhizomélique et l'ostéoarthropathie hypertrophiante pneumique de Pierre Marie qui révèle habituellement un cancer pulmonaire sont aussi des diagnostics possibles. Enfin, face à une polyarthrite destructrice : le clinicien se doit d'éliminer un rhumatisme psoriasique, des manifestations périphériques d'une spondylarthrite ankylosante.

Devant ces alternatives diagnostiques, nous comprenons mieux l'importance de la qualité de nos résultats biologiques afin d'aider le clinicien dans sa décision thérapeutique.

L'évolution : la PR est une affection chronique, qui sans traitement, aboutit progressivement le plus souvent à une destruction articulaire et une impotence fonctionnelle majeure. Seul l'usage précoce des thérapies adéquates permet d'obtenir une rémission chez 30 à 50% des PR débutantes avant le stade de destructions articulaires.

Le pronostic : un début aigu serait de meilleur pronostic, tout comme les formes à début tardif. Au contraire seraient de mauvais pronostic : la précocité des lésions osseuses, la présence de FR et surtout d'anti-CCP qui seraient prédictifs de lésions destructrices sévères.

L'enjeu actuel de la prise en charge thérapeutique de la polyarthrite rhumatoïde est de poser le diagnostic le plus tôt possible afin d'**initier un traitement efficace dès les premiers signes de la maladie** et ainsi ralentir l'évolution pour éviter les destructions articulaires irréversibles et le handicap.

L'IMAGERIE

Au début de la maladie, l'imagerie n'est pas très informative puisque les érosions sont absentes. La scintigraphie osseuse est un examen de débrouillage, reste l'échographie (qui détecte les synovites actives et les érosions débutantes) et l'IRM pour la détection des géodes et de l'œdème inflammatoire épiphysaire.

En 2010 ont donc été publiés conjointement par les deux grandes sociétés de rhumatologie américaine, l'ACR (American College of Rheumatology) et européenne, l'EULAR (European League Against Rheumatism), de nouveaux critères de classification :

SCORE

ARTICULATIONS ATTEINTES

1 articulation moyenne ou grosse	0
2-10 articulations moyennes ou grosses	1
1-3 petites articulations	2
4-10 petites articulations	3
> 10 articulations (au moins 1 petite articulation)	5

AUTOANTICORPS (FR et ACPA)

FR – et ACPA –	0
FR + et/ou ACPA + à faible taux (1 à 3 x seuil)	2
FR+ et/ou ACPA+ à taux élevé (>3 x seuil)	3

DURÉE D'ÉVOLUTION DES SYNOVITES

< 6 semaines	0
> 6 semaines	1

MARQUEURS BIOLOGIQUES DE L'INFLAMMATION

VS et CRP normales	0
VS et/ou CRP anormale(s)	1

Score ≥ 6 → Polyarthrite rhumatoïde

Les marqueurs biologiques de la maladie sont maintenant pris en compte en plus des critères classiques comme les signes articulaires (gonflements, inflammation).

Les critères biologiques apportent 4 des 6 points nécessaires pour porter le diagnostic (quid du FR si peu spécifique ?)

Il en va de la responsabilité du biologiste d'alerter le clinicien sur la spécificité de son test !

Nouveaux critères ACR/EULAR de la polyarthrite rhumatoïde (2010)

LA BIOLOGIE

Le bilan biologique est un acteur majeur du diagnostic précoce de PR et de l'évaluation du pronostic. Elle repose d'une part sur les tests non spécifiques qui mesurent l'inflammation et d'autre part sur la mise en évidence d'auto-anticorps : les facteurs rhumatoïdes (FR) et les anticorps anti-peptides cycliques ou protéines citrullinées.

- Le facteur rhumatoïde (FR) :

Paradoxalement une part importante du diagnostic biologique est encore faite au dosage des FR. Notre système de santé autorise même la réalisation de 2 groupes de techniques aux performances médiocres : un groupe de méthode utilisant des Ig humaines (dont la spécificité est très critiquable) et un autre groupe méthode utilisant des Ig animales (qui manque de sensibilité). Pour rappel, l'HAS recommande depuis 2006 d'abandonner les dosages de FR par technique d'agglutination (méthode Latex-Waler Rose) au profit des techniques ELISA ou turbidi- / néphélométrique qui offrent de meilleures performances de sensibilité et de spécificité.

On rappellera également que les FR peuvent apparaître au cours de tout processus inflammatoire et notamment au cours des connectivites autres que la PR comme le lupus ou le syndrome de Sjögren, et des vascularites. Les normes des fournisseurs ne tiennent pas compte de cet aspect. Face à l'importance de la biologie aujourd'hui plus encore, pour poser le diagnostic précoce, le biologiste a la responsabilité de s'assurer de **la cohérence des seuils de positivité du fournisseur**, ou tout au moins de **connaître les pathologies à l'origine d'interférences**.

- Les anticorps anti-protéines citrullinées (CCP) :

De façon générale, les anti-CCP sont positifs chez 70% des patients souffrant de PR (~50% dans les 6 premiers mois de la maladie). Ils sont retrouvés chez 90% des patients avec FR et 15% des polyarthrites sans FR. On les détecte par ELISA à partir de peptides synthétiques riches en citrulline (acide aminé résultant de la déimination de l'arginine), pour les anti-CCP, ou de protéines citrullinées (vimentine, fibrine) pour les anti-MCV.

D'autres anticorps sont plus rarement rencontrés : les anticorps antinucléaires (25 % des polyarthrites rhumatoïdes) surtout, en général à un taux faible posant parfois des problèmes de diagnostic différentiel.

Si les cliniciens ont révisé leurs critères diagnostiques, il revient aux biologistes de faire le choix de leurs méthodes de dosages dans le but d'améliorer la prise en charge du patient. Il devient au moins aussi important d'éclairer nos praticiens sur ce qu'ils peuvent attendre de nos résultats. Le choix technique du biologiste s'avère primordial.

Au CHRU de Lille, nous avons choisi d'informer les cliniciens sur les seuils de positivité qu'il conviendrait d'appliquer afin d'améliorer la spécificité des tests et d'éviter les errances diagnostiques face aux faux positifs des FR. Il conviendrait sans doute aussi d'insister sur le fait de **ne prescrire les FR qu'en seconde intention si les CCP sont négatifs** (S. Dubucquoi et al. PR séronégatives : mythe ou réalité, RFL-07-08-2010 ; vol 40 n°424 bis (32-39)).

Compte rendu de résultat au CHRU de Lille

Pour le diagnostic de la polyarthrite rhumatoïde (Valeurs établies sur une cohorte de 72 "PR" et 225 "non PR") :

FR (IgM anti IgG humaines) :

- Au seuil du fournisseur (20 UI/ml) : Spécificité 58 %, sensibilité de 90 %.
- Au seuil de 120 UI/ml : Spécificité 88 %, sensibilité 67 %.

FR (IgM anti IgG animales) :

- Au seuil du fournisseur (6 UI/ml), Spécificité 83 %, sensibilité 60 %.
- Au seuil de 10 UI/ml : Spécificité 90 %, sensibilité 59 %.

Ac anti CCP :

- Au seuil de 6 U/ml : Spécificité 98 %, sensibilité de 70 %

Comme attendu, de nombreuses circonstances pathologiques associées à un syndrome inflammatoire chronique (spondylarthrite, connectivites, maladies inflammatoires de l'intestin...) s'associent à un FR (IgM anti IgG humaines) de titre élevé. La présence de FR (IgM anti IgG humaines) n'est donc pas un test spécifique de la PR.

LE SUIVI

Faut-il surveiller les paramètres immunologiques au cours du suivi, FR ou anti-CCP ? **NON !**

Le suivi repose sur la clinique (évaluation du score DAS 28), le dosage de la CRP et sur l'électrophorèse des protéines pour pister l'apparition éventuelle d'une gammopathie monoclonale.

CONCLUSIONS

Le début de la maladie est progressif et insidieux : stade d'hésitations diagnostiques alors qu'il est capital à ce stade de pouvoir l'affirmer pour mettre en place un traitement précoce, seule alternative pour limiter les risques de détérioration articulaire définitive (« fenêtre d'opportunité » thérapeutique). A ce stade la radiologie est souvent non informative : seule la clinique et la biologie peuvent aider le clinicien. Depuis 2010 un consensus international (ACR/EULAR) recommande de tenir compte de la présence et du titre d'auto-anticorps FR et/ou anti-CCP dans le diagnostic et dans le choix du traitement de la PR le plus précocement possible. Il devient urgent d'harmoniser nos méthodes de dosages et d'utiliser celles qui ont fait la preuve de leurs performances. Les méthodes d'agglutination (latex /WR) pour le dosage des FR appartiennent au siècle passé, elles doivent laisser la place aux méthodes immuno-enzymatiques. L'identification de biomarqueurs prédictifs de la réponse au traitement doit encore se développer. Certains profils génétiques, des dosages de cytokines, les titres des auto-anticorps (une fois les méthodes de dosages harmonisées) pourraient être prédictifs de la réponse aux biothérapies dans la polyarthrite rhumatoïde.

Pour tout renseignement : Centre de Biologie Pathologie du CHRU de Lille - Institut d'Immunologie (poste 46954)

Méthode de groupe 1 : WR ou méthode utilisant des Ig animales	1 ml de sérum	4°C	2 / sem.	B40 (1451)
Méthode de groupe 2 : latex ou méthode utilisant des Ig humaines	1 ml de sérum	4°C	2 / sem.	B40 (1452)
Recherche ou titrage d'anti-CCP	1 ml de sérum	4°C	5 / sem.	B60 (1827)