



HAL
open science

Mise en évidence de la synthèse intrathécale par le modèle de Reiber : étude des performances dans une cohorte de patients atteints de sclérose en plaques au CH de Pau

Mariana Gianoli-Guillerme

► **To cite this version:**

Mariana Gianoli-Guillerme. Mise en évidence de la synthèse intrathécale par le modèle de Reiber : étude des performances dans une cohorte de patients atteints de sclérose en plaques au CH de Pau. Sciences pharmaceutiques. 2016. dumas-01291597

HAL Id: dumas-01291597

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01291597>

Submitted on 21 Mar 2016

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Université de Bordeaux
U.F.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Année 2016

N° 31

Thèse pour l'obtention du
DIPLOME d'ETAT de DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement

Par Mariana GIANOLI-GUILLERME

Née le 25 février 1988 à La Rochelle

Le Vendredi 12 février 2016 à BORDEAUX

MISE EN EVIDENCE DE LA SYNTHÈSE INTRATHECALE PAR LE
MODELE DE REIBER :
ETUDE DES PERFORMANCES DANS UNE COHORTE DE PATIENTS
ATTEINTS DE SCLEROSE EN PLAQUES AU CH DE PAU.

Directeur de thèse :

M. le Dr Olivier LACRAMPE

Jury :

Mme le Pr Véronique DUBOIS, PU-PH.....Président,
M. le Pr François MOREAU-GAUDRY, PU-PH.....Membre,
M. le Dr Mickaël BONNAN, Praticien Hospitalier.....Membre,
M. le Dr Henri COURTADE, Praticien hospitalier.....Membre,
M. le Dr Olivier LACRAMPE, Praticien hospitalier contractuel.....Membre.

Au président du jury,

Mme le Pr Véronique DUBOIS,

**Professeur des Universités, Université de Bordeaux,
Praticien Hospitalier, CHU de Bordeaux,**

Vous me faites le grand honneur de présider le jury de cette thèse après m'avoir accueilli au laboratoire de bactériologie pendant six mois.
Trouvez ici l'expression de mon profond respect.

Aux membres du jury,

M. le Pr François Moreau-Gaudry,

**Professeur des Universités, Université de Bordeaux,
Praticien Hospitalier, CHU de Bordeaux,**

Vous avez immédiatement accepté de juger ce travail. Je suis très honorée de vous compter parmi les membres de ce jury.
Recevez ici mes remerciements,

M. le Dr Mickaël BONNAN,

Praticien Hospitalier, CH de Pau,

Vous m'avez proposé ce travail et m'avez apporté conseils, appui et soutien au cours de cette année. Votre venue à Bordeaux en ce jour est le témoignage de votre grande implication dans ce travail, de votre disponibilité à mon égard. Je vous en remercie. Je suis très honorée de vous compter parmi les membres de ce jury.
Soyez convaincus de ma sincère considération,

M. le Dr Henri COURTADE,

Praticien Hospitalier, CH de Pau,

Je suis très heureuse et très honorée de ta présence au sein de ce jury. Tu m'as fait découvrir l'examen immunologique du LCR.
Reçois ici la marque de ma reconnaissance et de mon amitié,

M. le Dr Olivier LACRAMPE,

Praticien hospitalier contractuel, CH de Pau,

Je te remercie pour ton soutien, ta disponibilité, et tes précieux conseils, non seulement pour la réalisation de ce travail en tant que directeur de thèse, mais aussi depuis mes toutes premières semaines d'internat en tant que « parrain ». Tu sais transmettre tes connaissances avec efficacité, passion et bonne humeur.

Olivier, reçoit ici ma profonde admiration et toute mon amitié.

A Mme Julie France,

Méthodologie des essais cliniques, ARC coordonnateur,

DIMESP-Unité de Recherche Clinique, CH de Pau,

qui, par son aide pour l'analyse statistique, a largement contribué à la conduite et aux conclusions de notre étude.

Aux biologistes du laboratoire du CH de Bayonne, qui nous ont permis d'exploiter leurs données.

Aux personnels du Laboratoire du CH de Pau,

A ma maman, et à l'ensemble de ma famille.

TABLE DES MATIERES

Liste des abréviations	7
Liste des figures	8
Liste des tableaux	9
INTRODUCTION.....	10

PARTIE 1 : Généralités..... 11

1.1. Epidémiologie.....	11
--------------------------------	-----------

1.2. Clinique.....	12
---------------------------	-----------

1.3. Physiopathologie.....	14
-----------------------------------	-----------

1.4. Apport de la biologie dans le diagnostic de SEP	20
---	-----------

1.4.1. Examen cyto-chimique du LCR.....	21
---	----

1.4.2. Examen immunologique du LCR.....	22
---	----

1.4.2.1. Examen immunologique : techniques quantitatives	23
--	----

1.4.2.1.1. Principe des techniques de dosage	23
--	----

1.4.2.1.2. Calcul du quotient albumine : étude de l'état de la barrière sang-LCR	24
--	----

1.4.2.1.3. Etude de la synthèse intrathécale d'IgG	24
--	----

1.4.2.1.4. Recommandations	25
----------------------------------	----

1.4.2.2. Examen immunologique : techniques qualitatives	26
---	----

1.4.2.2.1. Méthodes	26
---------------------------	----

1.4.2.2.1.1. L'électrophorèse sur agarose haute résolution (62,64,65).....	26
--	----

1.4.2.2.1.2. L'immunofixation des IgG après électrophorèse sur agarose (56,62,65-68).....	27
---	----

1.4.2.2.1.3. La focalisation isoélectrique avec immunorévélation des IgG (IEF) (48,64,65,69)	28
--	----

.....	28
-------	----

1.4.2.2.1.4. Perspectives	29
---------------------------------	----

1.4.2.2.2. Interprétation.....	30
--------------------------------	----

1.4.2.2.3. Recommandations	32
----------------------------------	----

1.4.3. Profil caractéristique du LCR dans la SEP	33
--	----

1.5. Travaux de Reiber	36
-------------------------------------	-----------

1.5.1. Les différents concepts à la base du diagramme de Reiber	36
---	----

1.5.2. Diagramme de Reiber ou « Reibergramme »	42
--	----

1.5.3. Intérêts et limites des travaux de Reiber dans le diagnostic de SEP.....	44
---	----

PARTIE 2 : Matériel et méthode..... 47

2.1. Objet de l'étude	47
------------------------------------	-----------

2.2. Méthodologie	47
2.2.1. Recueil des données.....	47
2.2.2. L'examen cyto-immunologique du LCR au laboratoire du CH de Pau.....	50
2.2.3. Quotient albumine	52
2.2.4. Quotient IgG.....	52
2.2.5. Index IgG	52
2.2.6. Diagramme de Reiber	52
2.2.7. Interprétation de l'IEF.....	53
2.2.8. Statistiques.....	53
<u>PARTIE 3 : Résultats</u>	55
3.1. Description de la cohorte	55
3.2. Comparaison des données locales et des normes de Reiber	61
3.2.1. Description de la population témoin.....	61
3.2.2. Comparaison avec les normes de Reiber.....	63
3.2.3. Application des normes de Reiber à une autre cohorte	66
3.3. Adaptation à notre population : normes laboratoires	69
3.4. Application du diagramme de Reiber aux patients atteints de SEP et de SCI	70
3.4.1. Description des patients SEP et SCI	70
3.4.2. Etude des performances.....	71
3.4.3. Etude des synthèses intrathécales infraliminaires	78
<u>PARTIE 4 : Discussion</u>	80
4.1. Comparaison des données locales et des normes de Reiber	80
4.2. Performances du diagramme de Reiber dans le diagnostic de SEP	83
4.3. SIT dans les SEP à ponction lombaire normale	84
4.4. Evolution des pratiques au laboratoire du CH de Pau	86
CONCLUSION	88
BIBLIOGRAPHIE	89
ANNEXES	97
Annexe 1 - Critères diagnostiques de la SEP	97
SERMENT DE GALIEN	100

Liste des abréviations

Ac	Anticorps
ADEM	Encéphalomyélite aiguë disséminée
Ag	Antigène
BHE	Barrière hémato-encéphalique
BOC	Bandes oligoclonales
CLL	Chaînes légères libres
EDSS	Expanded Disability Status Scale
IEF	Focalisation isoélectrique
Ig	Immunoglobulines
IRM	Imagerie par Résonance Magnétique
LB	Lymphocytes B
LT	Lymphocytes T
NMO	Neuromyéélite optique
NORB	Névrite optique rétrobulbaire
OLT	Organes lymphoïdes tertiaires
PP	Progressive Primaire
Qalb	Quotient albumine
QIgG	Quotient immunoglobulines G
RR	Récurrente-Rémittente
S	Sérum
SCI	Syndrome Cliniquement Isolé
Se	Sensibilité
SD	Déviatation standard
SEP	Sclérose en plaques
SIT	Synthèse intrathécale
SNC	Système nerveux central
Sp	Spécificité
SP	Secondairement Progressive
VPN	Valeur Prédictive Négative
VPP	Valeur Prédictive Positive

Liste des figures

1. Les deux présentations cliniques de la sclérose en plaques
2. Les différents modes évolutifs de la sclérose en plaques
3. Mécanismes physiopathologiques de la sclérose en plaques
4. Principe de mesure en néphélométrie et turbidimétrie
5. Analyse comparée en IEF de six couples LCR/sérum par technique Hydragel 9CSF® Isofocusing Sebia
6. Profils électrophorétiques
7. Quotients LCR/sérum pour les IgG, IgA et IgM (QIgG, QIgA et QIgM) en fonction du quotient LCR/sérum de l'albumine (Qalb)
8. Physiologie du LCR
9. Exemples de diagrammes de Reiber pour les IgG, IgA et IgM
10. Intervalles de Qalb
11. L'examen cyto-immunologique du LCR au laboratoire du CH de Pau
12. Diagramme de Reiber
13. Groupes de patients utilisés dans notre étude
14. Application du diagramme de Reiber à notre cohorte de patients témoins
15. Application du diagramme de Reiber à notre cohorte de patients témoins triés biologiquement
16. Application du diagramme de Reiber à la cohorte de Pau
17. Application du diagramme de Reiber à la cohorte de Bayonne
18. Détermination de nos normes laboratoires à partir de notre cohorte de patients témoins
19. Application du diagramme de Reiber et des normes laboratoires aux patients SEP et SCI
20. Cas clinique 1 : Mme K.C.
21. Cas clinique 2 : Mme M.M.
22. Cas clinique 3 : Mme N.R.
23. Application du diagramme de Reiber et des normes laboratoires aux patients SEP et SCI à ponction lombaire normale
24. Distribution des témoins, patients SEP et SCI par rapport à la moyenne du diagramme de Reiber
25. Logigramme d'interprétation de l'examen immunologique du LCR au laboratoire du CH de Pau

Liste des tableaux

1. Classification de Luccinetti
2. Mécanismes impliqués dans la démyélinisation
3. Formules permettant une évaluation quantitative de la SIT d'Ig
4. Profil cyto-immunologique du LCR de SEP
5. Situations pathologiques associées à la présence de BOC IgG
6. Constantes a, b, et c de la fonction hyperbolique
7. Résultats des différents programmes et de l'index IgG
8. Profil de réponse immune humorale dans le SNC lors de la première ponction lombaire (diagnostic)
9. Situations pathologiques dans lesquelles une SIT est connue, possible ou non connue
10. Sélection de notre cohorte
11. Description de notre population totale
12. Description des pathologies des patients dont le diagnostic a été recherché
13. Sélection des témoins
14. Pathologies des patients inclus et exclus des témoins
15. Tri biologique des patients témoins
16. Comparaison de la répartition des patients de Pau et Bayonne sur le diagramme de Reiber
17. Caractéristiques du LCR des patients SEP et SCI
18. Performances diagnostiques
19. Résultats de la recherche de BOC, de l'index IgG, des normes de Reiber et des normes laboratoires des patients SEP et SCI
20. Performances des différentes techniques quantitatives dans la prédiction des BOC
21. Comparaison des deux modes de calcul du QIgG
22. Performances diagnostiques de l'IEF dans le SEP selon le seuil de BOC retenu

INTRODUCTION

La sclérose en plaques (SEP) est une maladie inflammatoire chronique du système nerveux central. Elle est caractérisée par la survenue de lésions, ou plaques de démyélinisation de la substance blanche, disséminées dans le temps et dans l'espace. La SEP est une maladie fréquente, débutant chez l'adulte jeune, et dont le retentissement de l'incapacité et du handicap sur la vie quotidienne est souvent majeur. Son diagnostic initial est parfois retardé, reposant sur un faisceau d'arguments cliniques et paracliniques.

De nombreuses maladies inflammatoires du système nerveux central, dont la SEP, sont responsables d'une synthèse intrathécale (SIT) d'immunoglobulines, témoin d'une forte réaction immunitaire locale. Cette SIT d'IgG est prouvée soit de manière qualitative par la présence de bandes oligoclonales IgG (BOC) spécifiques au liquide céphalorachidien (LCR) après focalisation isoélectrique (IEF), soit de manière quantitative par l'augmentation de l'index IgG. La focalisation isoélectrique est la méthode de référence, mais elle génère toujours un délai d'attente assez long. En effet, cette analyse est longue et coûteuse, et est généralement effectuée par séries.

La mise en évidence d'une SIT d'IgG n'est plus requise dans les critères diagnostiques de McDonald 2010, mais participe au diagnostic positif de la SEP. Le principal intérêt des techniques quantitatives est de signaler au clinicien une SIT en moins de 24h.

Néanmoins, la moindre sensibilité de l'index IgG ne lui permet pas de remplacer la recherche des BOC. Pour y pallier, un autre modèle quantitatif, peu disponible dans les laboratoires a été publié : le diagramme de Reiber.

Notre travail a pour objet la vérification des performances du modèle de Reiber, en l'appliquant à une cohorte de témoins sains du Centre Hospitalier de Pau, puis à une cohorte de patients atteints de sclérose en plaques. Finalement, cette étude rétrospective et monocentrique débouchera sur la discussion de la valeur prédictive de ce modèle.

1.1. Epidémiologie

La SEP affecte environ 2 millions de personnes dans le monde dont environ 80 000 personnes en France (1). Elle est plus fréquente dans l'hémisphère Nord (sa distribution suit un gradient Nord-Sud). La France est située dans la zone de risque intermédiaire. L'incidence annuelle en France est de 8 cas pour 100 000 habitants (2).

Il s'agit de la première cause non traumatique de handicap sévère acquis du sujet jeune (3). La SEP débute à un âge moyen situé entre 20 et 40 ans, avec une prédominance féminine (sex ratio de 3 femmes pour 1 homme).

Les causes sont multifactorielles (4) :

- génétiques : le HLA est le le facteur prépondérant dans la susceptibilité de la maladie
- environnementales : l'infection par le virus d'Epstein-Barr, le taux de vitamine D et l'ensoleillement (2), le tabac sont les principaux facteurs incriminés.

1.2. Clinique

Deux grandes présentations cliniques caractérisent le SEP : les poussées et la progression (*Figure 1*). Une poussée correspond à l'apparition de signes neurologiques ou à l'aggravation de signes préexistants, durant plus de 24h, en-dehors de fièvre, à plus de un mois de la dernière poussée. La progression est l'aggravation des signes cliniques durant 6 mois et plus, en l'absence de poussée (5,6). La symptomatologie de la SEP est très polymorphe. Cette maladie peut revêtir pratiquement tous les aspects de la séméiologie neurologique.

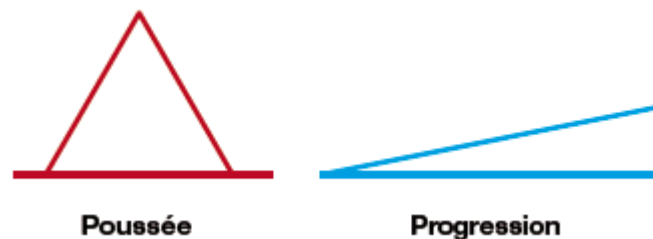


Figure 1 – Les deux présentations cliniques de la sclérose en plaques (5)

On décrit dans la SEP trois modes évolutifs (5,7,8) (voir *Figure 2*) :

Forme récurrente-rémittente (RR) : 85% des patients démarrent leur maladie par une forme à poussées, entrecoupées de périodes de rémission. Environ 50% des patients ont un début poly-symptomatique. La récupération après une poussée peut être complète (2/3 en début de maladie) ou partielle avec séquelles, malgré un traitement de celle-ci. En moyenne, les patients ont une poussée tous les 18 mois en début de maladie puis la fréquence diminue. Les différents symptômes peuvent être isolés ou s'associer et des séquelles peuvent s'accumuler avec le temps. La fatigue concerne environ 75% des patients. Elle peut être inaugurale. Il s'agit d'un des symptômes les plus invalidants, altérant la vie quotidienne. Les troubles cognitifs concernent 40% des patients, la dépression et l'anxiété 27 à 54% des patients.

Forme secondairement progressive (SP) : après quelques années d'évolution sur un mode rémittent, la maladie évolue sur un mode progressif, avec ou sans poussées surajoutées. En moyenne, 50% des patients ayant une forme rémittente passeront en forme secondairement progressive au bout de 10 ans. Au cours du temps, il existe une accumulation des signes. Au-delà de 10 ans d'évolution, les troubles cognitifs touchent plus de 1 patient sur 2, la fatigue, les troubles urinaires et sexuels sont fréquents.

Forme progressive primaire (PP) : 15% des SEP sont progressives d’emblée, caractérisées par un handicap croissant avec majoration des signes. Ces formes peuvent être avec ou sans poussées surajoutées. Elles touchent autant les femmes que les hommes, débutent à un âge plus avancé (en moyenne 40 ans), avec un handicap qui survient plus vite.

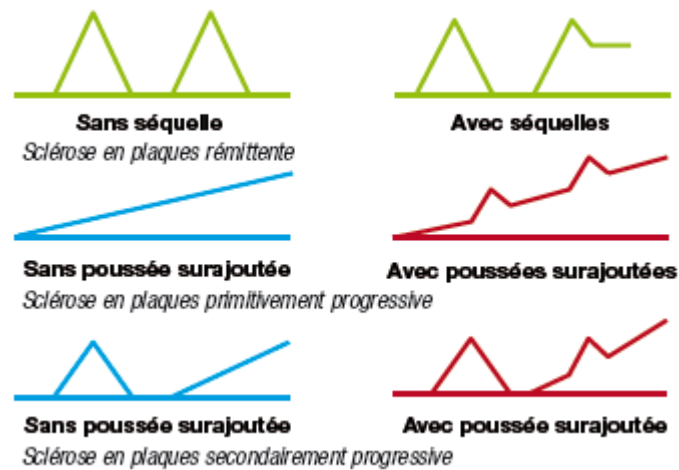


Figure 2 – Les différents modes évolutifs de la sclérose en plaques (5)

Quelque soit le mode évolutif, la SEP aboutit souvent vers un handicap et compromet fortement la qualité de vie. L’incapacité des patients est mesurée à l’aide de l’échelle EDSS (Expanded disability status scale) (9,10).

1.3. Physiopathologie

La SEP est une maladie inflammatoire, démyélinisante et dégénérative du système nerveux central (SNC), consistant en une attaque auto-immune de la gaine de myéline dans le système nerveux central. Elle présente une physiopathologie complexe, impliquant l'immunité cellulaire, mais aussi l'immunité humorale.

Les arguments majeurs plaçant pour la participation d'une réaction immunitaire spécifique d'antigène sont multiples (11):

- Histologiquement, la maladie est caractérisée par l'infiltration de la substance blanche du SNC par des cellules inflammatoires mononucléées (lymphocytes, macrophages, plasmocytes).
- Biologiquement, il existe des signes d'activation lymphocytaire.
- Génétiquement, la maladie est associée à certains haplotypes du complexe majeur d'histocompatibilité HLA, notamment HLA-DRB1*1501 -DQB*0602 (HLA-DR2), suggérant un mécanisme de présentation d'antigènes (Ag).

Les cibles antigéniques potentielles sont les protéines et glycopeptides des oligodendrocytes et de la myéline, mais aussi d'autres composants du système nerveux (axones, neurones, astrocytes).

Des clones de LT CD4 naïfs vont être activés dans les organes lymphoïdes secondaires par des cellules présentatrices d'Ag, possiblement par des mécanismes de mimétisme moléculaire sur un terrain génétique prédisposé. L'identification moléculaire d'Ag microbiens impliqués dans la pathogénie de la SEP fait encore défaut (12).

Une fois que le contact avec l'Ag a été effectué, les LT s'engagent dans la phase de différenciation (dans la voie Th1 et Th17 (13)), et de prolifération. Puis, se retrouvant dans la circulation, ces clones activés de LT traversent la barrière hémato-encéphalique (BHE) grâce aux molécules d'adhésion qu'ils expriment à leur surface qui interagissent avec leurs ligands sur les cellules endothéliales de la BHE.

Dans le parenchyme cérébral, les LT pourront être en contact avec des cellules présentatrices d'Ag, induisant la production de cytokines pro-inflammatoires et de chimiokines. Cela va favoriser :

- Le recrutement de nouveaux lymphocytes,
- L'activation de cellules résidentes du SNC (microglie),
- L'attraction de macrophages et leur activation.

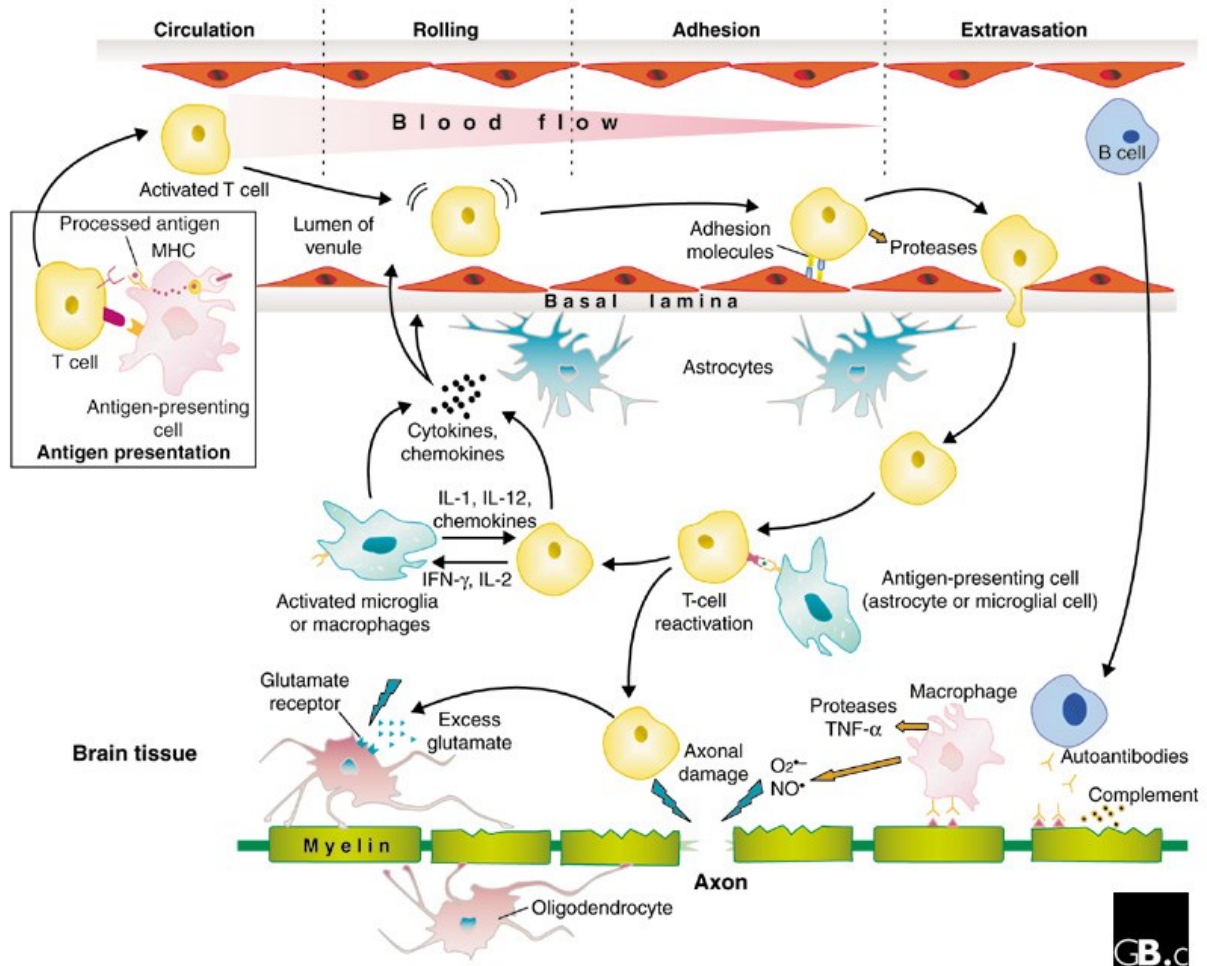


Figure 3 – Mécanismes physiopathologiques de la sclérose en plaques (14)

Deux processus pathologiques principaux sont impliqués dans la physiopathologie de la SEP, l'inflammation et la neurodégénérescence. Ces processus sont étroitement associés, à tous les stades de la maladie (15).

L'inflammation d'origine périphérique est responsable des lésions histologiques élémentaires caractéristiques, les plaques de démyélinisation. L'ensemble du SNC semble atteint de façon diffuse, même si les lésions macroscopiques prédominent dans la substance blanche. Les

nerfs et voies optiques sont très fréquemment atteints de façon extensive (7). Les symptômes lors des poussées sont principalement dus au bloc de conduction, conséquence de la démyélinisation.

La plaque chronique typique est une lésion bien délimitée, présentant un infiltrat inflammatoire périvasculaire de macrophages, plasmocytes, LT et LB.

A partir de pièces de biopsie et d'autopsie, quatre patrons de lésions actives démyélinisantes ont été décrits selon l'importance de la perte en protéines myéliniques, l'aspect des oligodendrocytes et des cellules inflammatoires, l'existence d'une remyélinisation sur les shadow plaques (aires remyélinisées) des mêmes patients, et l'évidence de dépôts d'Ig et de complément activé (Classification de Luccinetti, voir *Tableau 1*). Le même aspect était toujours observé chez un même patient.

Plusieurs mécanismes de démyélinisation sont possibles (16–19) (voir *Tableau 2*).

Tableau 1 – *Classification de Luccinetti (7)*

Aspects	Patron I	Patron II	Patron III	Patron IV
Fréquence	12%, surtout SEP « aiguës »	53%, toutes formes	30%, surtout SEP « aiguës »	3% (30% des formes PP)
Inflammation	Lymphocytes T et macrophages	Lymphocytes T et macrophages	Lymphocytes T, macrophages, microglie activée	Lymphocytes T et macrophages
IgG et complément	-	++	-	-
Démyélinisation	Périveineuse, limite nette	Périveineuse, limite nette	Concentrique, pas périveineuse, limite floue	Mort des oligodendrocytes en périphérie de la plaque
Perte des protéines myéliniques	Toutes ensemble	Toutes ensemble	Surtout la MAG (myelin associated glycoprotein)	Toutes ensemble
Apoptose des oligodendrocytes	-	-	++	-
Remyélinisation dans les shadow plaques associées	++	++	-	-

Tableau 2 - Mécanismes impliqués dans la démyélinisation (7)

Élément	Mécanisme
Expansion oligoclonale de LT CD8+	Induction d'une toxicité directe restreinte par le CMH de classe I sur les oligodendrocytes
LT CD4+ activés	Stimulation indirecte des macrophages et de la microglie
Expansion oligoclonale de LB, maturation de l'affinité de leur récepteur pour l'Ag, synthèse d'Ig	Opsonisation et phagocytose de la membrane myélinique (les cellules microgliales et les macrophages possèdent un récepteur pour le fragment Fc des immunoglobulines)
Activation du système du complément	Formation de vésicules membranaires
Facteurs solubles produits par les cellules mononucléées (certaines cytokines comme le TNF α , protéases, phospholipases, radicaux oxygénés, monoxyde d'azote)	Lésions myéliniques

Une corrélation a été observée entre la présence de lésions inflammatoires et la présence de lésions axonales, suggérant que l'inflammation pouvait contribuer directement aux lésions axonales, dès le début de la maladie (20). Les éléments possiblement impliqués sont le monoxyde d'azote et son dérivé le peroxy-nitrite, le glutamate, les cytokines, les protéases et les LT CD8+ (15,21,22).

Les données neuropathologiques récentes des phases progressives ont permis de mettre en évidence une inflammation diffuse sous forme de petits amas leucocytaires méningés, partageant de nombreuses caractéristiques avec les organes lymphoïdes (23,24). Ces amas sont décrits comme des organes lymphoïdes tertiaires (OLT) et sont observés dans d'autres maladies auto-immunes ou infectieuses, et dans la plupart des organes.

Ces OLT intrathécaux assurent localement une maturation lymphocytaire B et T dépendante d'Ag. Ils sont spatialement associés à des lésions corticales (perte myélinique et cellulaire). Le mécanisme lésionnel des OLT sur le cortex est incertain. Ces lésions sont fortement corrélées au développement de l'atrophie corticale, du handicap et de l'atteinte cognitive dans tous les sous-groupes de SEP (25).

Les plasmocytes issus de cette maturation assurent la synthèse intrathécale d'Ig qui se traduit

par l'apparition de plusieurs bandes distinctes d'IgG dans le LCR sur le profil de migration électrophorétique (aspect oligoclonal) (26).

Les spécificités antigéniques des IgG ainsi visualisées n'ont pas encore été formellement identifiées (19,27). La variabilité de cette synthèse est grande d'un patient à l'autre mais aussi chez un même sujet (les IgG éluées des plaques présentent un profil oligoclonal variant d'une plaque à l'autre chez un même patient (7)). Seule une petite proportion de cette synthèse est attribuable à des Ac connus (28), mais ils sont multiples et souvent non spécifiques (7,17). Ainsi, certaines études ont mis en évidence dans le LCR de patients atteints de SEP des Ac dirigés contre divers virus, tel le groupe rubéole, rougeole, varicelle (anti-MRZ : 94% des patients SEP (29)). D'innombrables auto-Ac dirigés contre des protéines myéliniques ou oligodendrocytaires ont été isolés : MBP (myelin basic protein), MOG (myelin oligodendrocyte glycoprotein), MAG (myelin associated glycoprotein), PLP (myelin proteolipid protein), CNP (2',3'-cyclic nucleotide 3' phosphodiesterase), transaldolase... Par ailleurs, d'autres cibles antigéniques que les protéines myéliniques sont étudiées, comme les lipides, qui sont un constituant majeur de la gaine de myéline et de la membrane cellulaire (par exemple la galactocérobroside (GalC), un glycolipide du SNC) (11).

1.4. Apport de la biologie dans le diagnostic de SEP

Le diagnostic de SEP est fondé sur un faisceau d'arguments cliniques et radiologiques de dissémination temporelle et spatiale d'atteinte du système nerveux central en dehors d'une autre maladie évolutive (5).

La dissémination temporelle des lésions se définit comme la succession d'épisodes neurologiques au sein du système nerveux central dans le temps, dans un intervalle supérieur à un mois.

La dissémination spatiale des lésions est prouvée par la mise en évidence d'une atteinte de plusieurs zones du SNC.

Les critères diagnostiques de la SEP ont été plusieurs fois révisés afin de diminuer le délai diagnostique en s'appuyant sur l'IRM : critères de Poser en 1983 (30) puis critères de McDonald (en 2001 (31), révisés en 2005 (32) puis 2010 (33)). Les critères de McDonald 2010 permettent le diagnostic de SEP dès la première poussée si les critères de dissémination spatiale et temporelle sont remplis.

L'analyse du LCR par ponction lombaire n'est plus obligatoire avec les critères actuels pour le diagnostic de SEP-RR mais reste un critère diagnostique de la SEP-PP (34–37). Elle peut être importante pour :

- Mettre en évidence une synthèse intrathécale d'IgG, témoin d'une réaction immunitaire locale (augmentation de l'index IgG et/ou présence de BOC) (38) : seul élément biologique utile au diagnostic positif de la SEP, cependant non spécifique.
- Evoquer des diagnostics différentiels de la SEP (pléiocytose $> 50 /\text{mm}^3$, protéinorachie $> 1 \text{ g/l}$) (35).
- Evaluer le risque de conversion en SEP devant un syndrome cliniquement isolé (SCI), c'est-à-dire un premier événement clinique démyélinisant, pouvant affecter de manière isolée ou simultanée les nerfs optiques, le tronc cérébral, la moelle épinière ou, moins fréquemment, les structures supratentorielles du cerveau (39) : la présence de BOC IgG dans le LCR augmente significativement le risque de conversion en SEP (40–47).

1.4.1. Examen cyto-chimique du LCR

Le prélèvement de LCR est réalisé par ponction lombaire (jusqu'à 10 ml chez l'adulte, moins chez l'enfant). Pour éviter l'adhérence des protéines aux parois, les tubes en polypropylène sont les plus indiqués. Un échantillon de sérum doit obligatoirement être prélevé au même moment (48).

Les prélèvements doivent être acheminés rapidement au laboratoire en raison de la fragilité des cellules et de la glycorachie. L'examen doit être réalisé dans les deux heures qui suivent le prélèvement (conservé à 4-8°C) (49). L'aspect macroscopique du LCR est noté.

La numération des hématies et leucocytes est réalisée. Le LCR normal contient ≤ 4 leucocytes par mm^3 (50,51) et moins de 100 hématies par mm^3 (un caractère hémorragique mineur au prélèvement est toléré) (50,51).

La formule cytologique est réalisée, après un enrichissement cellulaire soit par centrifugation à 1000 tours/minute pendant 10 minutes soit par cytocentrifugation sur Cytospin Shandon avec addition de quelques gouttes d'une solution de protéines à 600 tours/minute pendant 6 minutes, sur le frottis fixé à l'air et coloré au May-Grünwald-Giemsa. La formule cytologique d'un LCR normal comprend 70 à 99% de lymphocytes et 1 à 30% de monocytes. En présence d'une hémorragie de ponction, on observe une contamination par des hématies et des cellules nucléées en même proportion que dans le sang circulant (48).

Les protéines totales sont dosées par méthodes colorimétriques ou par précipitation par le chlorure de benzéthonium sur automates de biochimie. La protéinorachie normale chez l'adulte varie de 0,15 à 0,40 g/l (48). Le glucose est également dosé sur automates de biochimie (méthode enzymatique à l'hexokinase). La glycorachie normale est deux tiers de la glycémie.

1.4.2. Examen immunologique du LCR

Les conférences de consensus ont établi une série de recommandations sur l'examen immunologique du LCR dans le cadre du diagnostic de SEP (51–53).

L'information essentielle obtenue par l'analyse du LCR est l'origine inflammatoire des anomalies du SNC. Les tests détectant une réponse immune sont les plus importants mais la SIT n'est pas spécifique de la SEP (retrouvée dans beaucoup d'autres maladies neurologiques inflammatoires).

L'examen immunologique est réalisé sur la couple LCR-sérum d'un même patient. La mise en évidence d'une SIT d'IgG peut se faire :

- Soit de façon quantitative,
- Soit de façon qualitative.

Le neurologue doit considérer l'ensemble des résultats de l'analyse cyto-immunologique du LCR (numération, protéinorachie, glycorachie ...). Il est recommandé d'intégrer dans un rapport final l'ensemble des résultats des différentes analyses réalisées sur le LCR et le sérum, permettant de déterminer le caractère inflammatoire, aigu ou chronique, de l'atteinte du SNC.

1.4.2.1. Examen immunologique : techniques quantitatives

L'albumine et les IgG sont dosés en parallèle, par les mêmes techniques (immunonéphélométrie cinétique ou immunoturbidimétrie sur automate), dans le LCR et le sérum du patient. Cela permet d'évaluer l'état fonctionnel de la barrière sang-LCR et de rechercher une synthèse intrathécale d'IgG. Même une faible contamination sanguine diminue la fiabilité des techniques quantitatives (54).

1.4.2.1.1. Principe des techniques de dosage

Néphélométrie et turbidimétrie sont des techniques voisines, couramment employées dans les laboratoires de biochimie, basées sur la dispersion de la lumière par des particules en suspension (voir *Figure 4*). Ces méthodes mettent en œuvre la précipitation d'une protéine à doser par son anticorps spécifique (immunoprécipitation). Les complexes antigènes-anticorps ainsi formés en solution peuvent disperser la lumière de façon considérablement plus importante que les antigènes ou anticorps libres, et ceci avec une intensité proportionnelle (sous certaines conditions) au nombre de complexes (55).

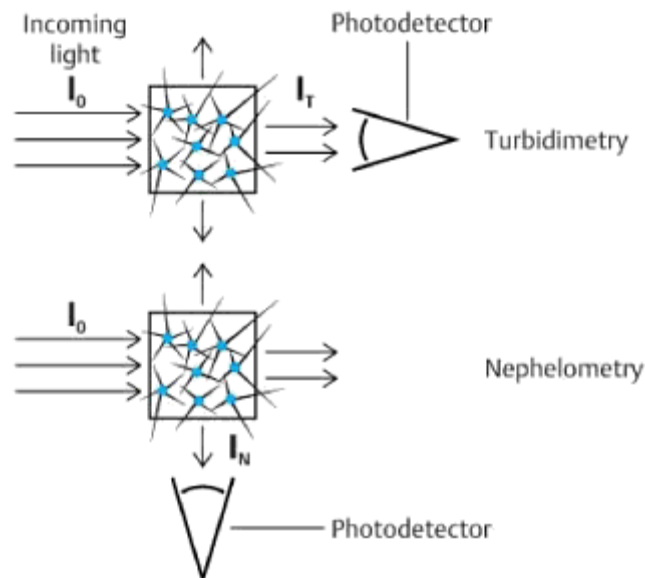


Figure 4 – Principe de mesure en néphélométrie et turbidimétrie (50)

1.4.2.1.2. Calcul du quotient albumine : étude de l'état de la barrière sang-LCR

Pour interpréter les variations de la concentration en IgG dans le LCR, il faut connaître l'état de la barrière sang-LCR. En effet, si cette barrière est altérée, la quantité d'IgG transsudées dans le LCR augmente (et est d'autant plus élevée que la concentration des IgG dans le sang est élevée).

Le Qalb est le marqueur de choix de l'état de la barrière sang-LCR car l'albumine est synthétisée exclusivement par le foie (elle ne provient donc jamais du SNC et sa présence reflète une diffusion passive) (54,56).

$$Qalb = \frac{[alb\ LCR]}{[alb\ S]} \text{ (Concentrations en g/l)}$$

L'intervalle de référence du Qalb varie en fonction de l'âge (51) (la perméabilité augmente avec l'âge) :

- $< 5 \times 10^{-3}$ chez l'enfant de moins de 15 ans
- $< 6,5 \times 10^{-3}$ entre 16 et 40 ans
- $< 8 \times 10^{-3}$ entre 40 et 60 ans
- $< 9 \times 10^{-3}$ chez les sujets de plus de 60 ans.

Ce Qalb limite est déterminé par la formule suivante (57):

$$Qalb\ lim = \left(4 + \frac{\hat{a}ge}{15} \right) \times 10^{-3}$$

Une augmentation du Qalb indique une altération de la barrière sang-LCR (passage accru des protéines plasmatiques dans le LCR).

1.4.2.1.3. Etude de la synthèse intrathécale d'IgG

Une augmentation de la concentration des IgG dans le LCR est due à :

- Augmentation de la concentration sérique des IgG,
- Et/ou transsudation (c'est-à-dire augmentation de la filtration des protéines plasmatiques liée à une altération fonctionnelle de la barrière sang-LCR),
- Et/ou synthèse intrathécale.

Différentes formules permettent d'évaluer quantitativement la synthèse intrathécale, reflet d'une réaction inflammatoire dans le SNC (voir Tableau 3) : l'index IgG est le plus fréquemment utilisé. L'emploi de la formule de Tourtelotte est restreint aux cas où la BHE est normale.

Tableau 3 - Formules permettant une évaluation quantitative de la SIT d'IgG

Nom	Formule	Seuil de normalité
Index de Link ou index IgG (58,59)	$index\ IgG = \frac{\frac{[IgG\ LCR]}{[IgG\ S]}}{\frac{[alb\ LCR]}{[alb\ S]}}$ (concentrations en g/l)	≤ 0,70 (sans dimension) (60)
Tourtelotte (61,62)	$SIT\ IgG = \left[IgG\ LCR - \left(\frac{IgG\ S}{369} \right) - \left(alb\ LCR - \left(\frac{alb\ S}{230} \right) \right) \times \left(\frac{IgG\ S}{alb\ S} \right) \times 0,43 \right] \times 0,5\ l/24h$ (concentrations en mg/l)	≤ 3 mg/24h
Reiber (63)	$IgG\ Loc = IgG\ S \times [QIgG - QLim]$ $\text{Avec } QLim = 0,93 \sqrt{\left(\frac{alb\ LCR}{alb\ S} \right)^2 + 6} + 1,7$ (concentrations en g/l)	≤ 0

1.4.2.1.4. Recommandations

La sensibilité des méthodes quantitatives est inférieure à celle de la focalisation isoélectrique (IEF). Ces techniques représentent un complément informatif de l'IEF et ne peuvent s'y substituer.

Il est recommandé (51,52) :

- D'analyser le LCR et le sérum dans la même série par la même méthode pour minimiser l'imprécision analytique.
- De déterminer les quotients (concentration dans le LCR/concentration dans le sérum) afin d'éliminer les écarts dus aux étalonnages et obtenir ainsi des valeurs indépendantes de la méthode (53).

- D'utiliser la relation non linéaire entre QIgG et Qalb (car les relations linéaires perdent en sensibilité en cas d'altération de la barrière sang-LCR) et de la représenter graphiquement. En effet, le graphique permet d'avoir simultanément des informations sur une éventuelle SIT d'IgG et altération de la fonction de la barrière sang-LCR.
- De prendre en compte la fonctionnalité de la barrière sang-LCR avec le Qalb (meilleur que la concentration de l'albumine dans le LCR seule et que la protéinorachie) interprété en tenant compte de l'âge du patient.

Une numération des hématies trop élevée (supérieure à 5×10^9 à $7 \times 10^9/l$) indiquant une ponction traumatique rend possiblement ininterprétables les résultats des analyses quantitatives.

1.4.2.2. Examen immunologique : techniques qualitatives

La synthèse intrathécale d'IgG est mise en évidence par la présence de bandes oligoclonales d'IgG spécifiques au LCR. Plusieurs méthodes de détection des BOC, de sensibilité et spécificité variables, sont disponibles dans les laboratoires.

Le principe est le même : après ajustement de leur concentration en IgG, les échantillons de LCR et de sérum sont déposés côte à côte pour une comparaison fiable des profils de répartition des IgG.

1.4.2.2.1. Méthodes

1.4.2.2.1.1. L'électrophorèse sur agarose haute résolution (62,64,65)

L'électrophorèse est une méthode de séparation de particules chargées électriquement par migration différentielle sous l'action d'un champ électrique. La séparation des particules dépend de leur charge et de leur taille. A un pH donné (utilisation d'une solution tampon), les protéines, qui vont toutes avoir une charge identique, vont migrer à travers les mailles du gel et vont être séparées en fonction de leur taille. Le gel est ensuite fixé, coloré et séché.

Un coffret réactif HYDRAGEL-MINI HR[®] Sébia permet de réaliser l'électrophorèse en technique manuelle.

Cette technique n'est pas assez informative :

- Mauvaise spécificité à révéler les bandes oligoclonales d'IgG. Des bandes colorées dans la zone des gammaglobulines peuvent être artéfactuelles. Interprétation délicate.
- Mauvaise sensibilité (limite de détection donnée par Sebia : environ 0,25 g/l).
- Problème de standardisation et de reproductibilité car technique manuelle.
- Mauvaise praticabilité car une concentration du LCR est toujours nécessaire (consommation d'un volume important de LCR, surcoût, perte de matériel sur le filtre).

1.4.2.2.1.2. L'immunofixation des IgG après électrophorèse sur agarose (56,62,65–68)

La technique la plus couramment utilisée est la technique sensibilisée de Sebia adaptée aux LCR non concentrés (HYDRAGEL 6 CSF[®] sur le semi-automate Hydrasis[®] Sebia). Les étapes manuelles sont la préparation des échantillons et des gels, le dépôt des réactifs et le lancement des séquences automatiques. La préparation des échantillons consiste en un ajustement des concentrations en IgG du LCR et du sérum. Le système Hydrasis[®] assure les étapes d'application des échantillons, de migration électrophorétique, d'incubation avec les réactifs, de révélation, de pompage et de séchage final des gels. L'immunofixation s'effectue donc dans l'automate à l'aide d'immuns sérums caprins conjugués à la peroxydase (anti-G, anti-kappa, anti-lambda). La révélation se fait directement dans le gel par le réactif TTF3 (substrat de la peroxydase) en présence d'eau oxygénée.

Les performances analytiques sont améliorées par rapport à l'électrophorèse sur agarose haute résolution :

- Bonne reproductibilité et standardisation car technique semi-automatique.
- Gain de sensibilité et de spécificité grâce à l'immunorévélation des IgG (limite de détection donnée par Sébia : 30 à 125 µg/l avec l'anti-G).
- Concentration du LCR rarement nécessaire.

1.4.2.2.1.3. La focalisation isoélectrique avec immunorévélation des IgG (IEF) (48,64,65,69)

Cette technique associe le pouvoir résolutif de la focalisation d'une part et la spécificité de la réaction immunologique d'autre part.

L'IEF est la séparation des protéines en fonction de leur point isoélectrique, dans un gradient de pH créé par des ampholytes de pH 3.5 à 10, en gel d'agarose ou de polyacrylamide, sous un voltage élevé et avec un contrôle rigoureux de la température. Le point isoélectrique d'une protéine dépend à la fois de la séquence protéique et de la glycosylation (70). Au point isoélectrique, sous un fort voltage, la charge globale des protéines est nulle. Elles s'immobilisent dans le gel en bandes plus ou moins fines.

L'immunorévélation des IgG peut se faire selon 3 procédés :

- Immunofixation des IgG directement dans le gel.
- Sur membrane de nitrocellulose ou de polyvinylidene difluoride (PVDF-P) après un transfert passif.
- Sur membrane après immunotransfert.

L'immunsérum révélateur des IgG peut être conjugué à la peroxydase ou à la biotine après amplification par le complexe streptavidine-phosphatase alcaline.

Plusieurs techniques sont aujourd'hui commercialisées : soit manuelles réalisées à l'aide de coffrets réactifs sur des ensembles modulaires spécialisés pour focalisation (IgG-IEF Helena Biosciences (54,71), Amersham) soit semi-automatisées (HYDRAGEL 3CSF[®] ou 9CSF[®] ISOFOCUSING[®] Sebia, PhastSystem Amersham Biosciences). La limite de détection donnée par Sebia est 310 µg/l.

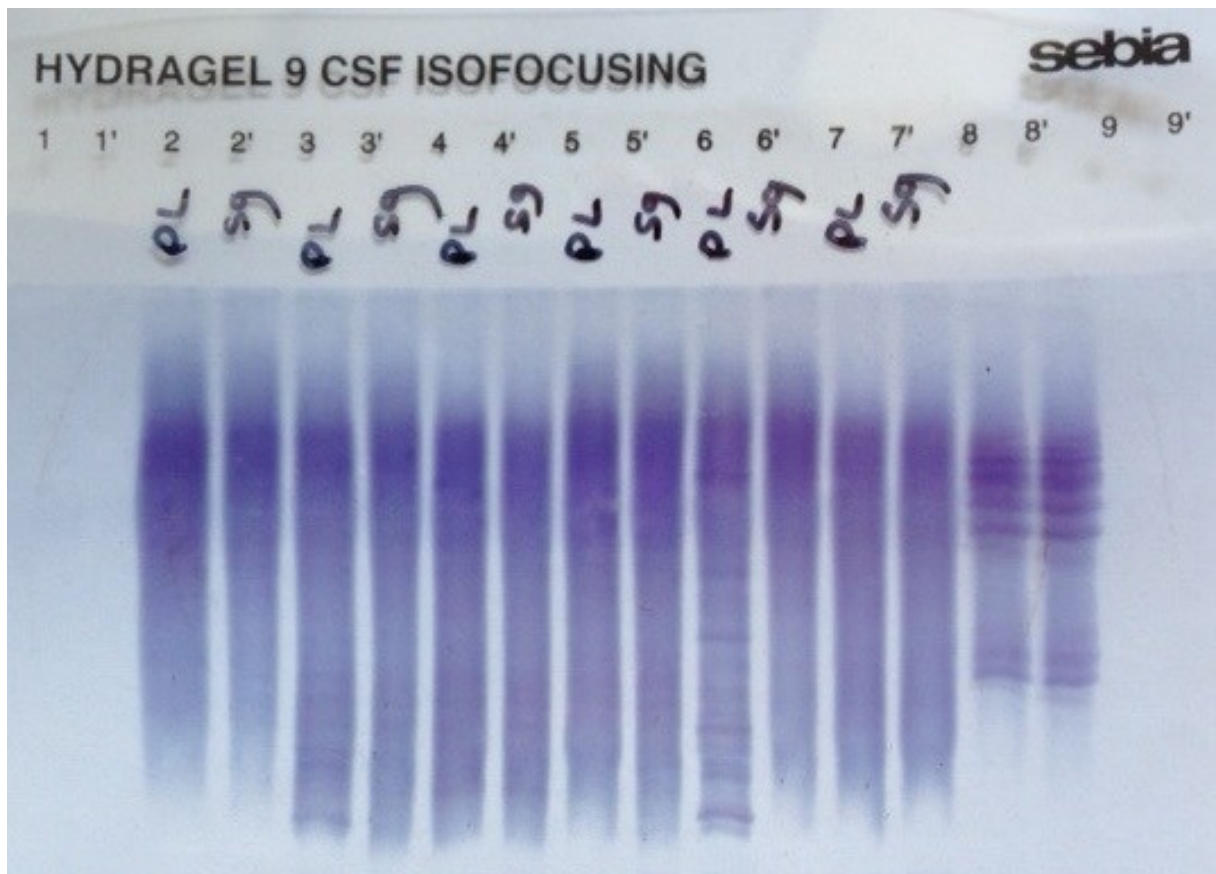


Figure 5 - Analyse comparée en IEF de 6 couples LCR/sérum (et un contrôle positif en positions 8 et 8') par technique Hydrigel 9CSF[®] Isofocusing[®] Sebia (image laboratoire CH Pau)

1.4.1.4.1.4. Perspectives

La technique de focalisation isoélectrique capillaire automatisée suivie d'une détection immunologique a récemment été développée (72). La focalisation isoélectrique capillaire fournit le pouvoir de résolution élevé de l'IEF conventionnelle et les capacités d'automatisation de l'électrophorèse capillaire (73). Cette nouvelle technique, encore expérimentale pourrait permettre un gain de sensibilité et de spécificité dans le diagnostic de SEP (respectivement 100% et 94,7% (72)), tout en étant plus rapide.

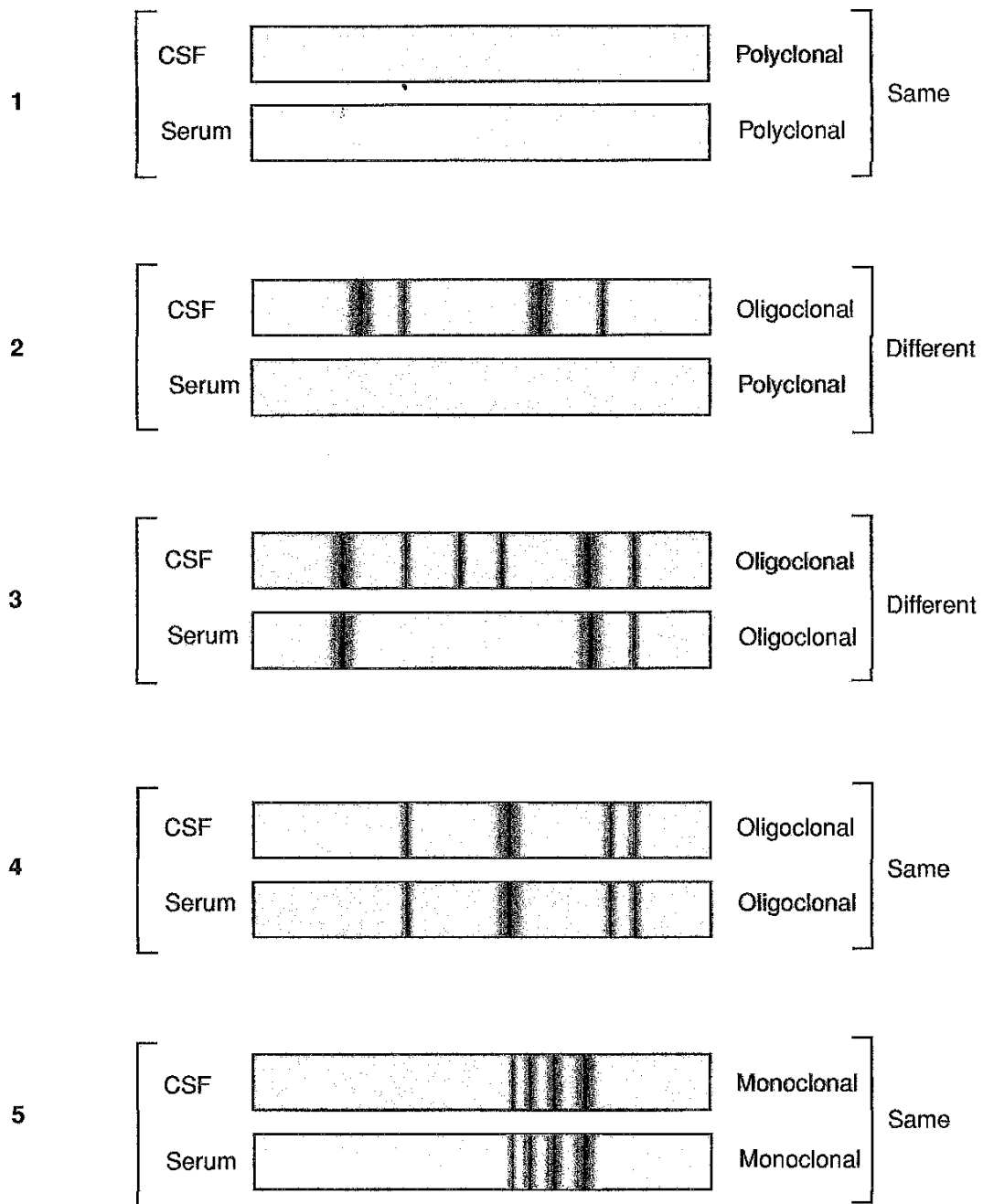
1.4.2.2.2. Interprétation

L'interprétation des profils est qualitative par inspection visuelle (la lecture densitométrique n'est pas nécessaire, de préférence par deux lecteurs expérimentés (51,65).

Le principe est de comparer l'immunité intrathécale (LCR) à l'immunité générale (sérum), d'où l'importance de déposer la même quantité d'IgG. Les profils de répartition des IgG chez un même patient (LCR et sérum) sont identiques ou différents. Ils peuvent être de type polyclonal, oligoclonal ou monoclonal.

On distingue 5 profils (65) (voir *Figure 6*) :

- Le profil de type 1 est normal ou polyclonal dans le LCR et le sang. Il est constitué de bandes diffuses sur un fond coloré.
- Le profil de type 2 présente des bandes oligoclonales d'IgG spécifiques restreintes au LCR (au moins deux), correspondant à une synthèse intrathécale d'IgG. Ce profil est oligoclonal dans le LCR et polyclonal dans le sérum. Les bandes oligoclonales sont fines et en surimpression sur un fond faiblement coloré. Ce profil correspond à une SIT de type oligoclonal dans le LCR.
- Le profil de type 3 est oligoclonal avec présence de bandes d'IgG spécifiques au LCR, auxquelles s'ajoutent d'autres bandes oligoclonales d'IgG présentes à la fois dans le LCR et le sérum, correspondant à une synthèse intrathécale d'IgG associée à une hyper-immunisation systémique. Il peut s'observer dans la SEP et dans les maladies inflammatoires chroniques, infectieuses, post-infectieuses et tumorales du SNC.
- Le profil de type 4 présente des bandes oligoclonales d'IgG identiques dans le LCR et le sérum. Ce profil est dit en miroir. Il correspond à une hyper-immunisation systémique sans synthèse intrathécale (interprété comme négatif). Il s'observe dans les infections chroniques et les maladies inflammatoires systémiques.
- Le profil de type 5 présente de 3 à 8 bandes régulièrement espacées en barreaux d'échelle avec une intensité qui diminue de la cathode à l'anode, identiques dans le LCR et dans le sang. Il n'y a pas de synthèse intrathécale d'IgG. Ce profil s'observe dans les gammopathies monoclonales. Cette hétérogénéité apparente des IgG monoclonales est due à la glycosylation post-transcriptionnelle (détectable par IEF, non détectable par électrophorèse haute résolution).



Type 1 : Profil normal
 Type 2 : Synthèse intrathécale d'Ig G (ex : Sclérose en Plaques)
 Type 3 : Synthèse intrathécale d'Ig G dans les maladies systémiques
 Type 4 : Inflammation systémique (profil en miroir avec bandes oligoclonales)
 Type 5 : Gammapathie monoclonale (profil en miroir avec bandes monoclonales)

Figure 6 – Profils électrophorétiques (65)

1.4.2.2.3. Recommendations

Un large consensus international considère que le test le plus sensible et spécifique pour détecter une synthèse intrathécale d'IgG est la mise en évidence de bandes oligoclonales spécifiques au LCR par focalisation isoélectrique (sur gel d'agarose suivi d'immunoblot). Appelé « gold standard », l'IEF est indispensable dans le bilan cyto-immunologique du LCR. Il est recommandé (51–53) :

- D'utiliser le LCR non concentré, comparé directement au sérum, sur une piste adjacente dans la même série.
- De déposer la même quantité d'IgG pour le LCR et le sérum.
- D'utiliser un contrôle de qualité interne à chaque série (échantillon LCR contrôle) afin d'identifier les bandes artéfactuelles retrouvées sur tous les gels dues au gradient inhomogène de pH.
- De participer à un programme d'évaluation externe de la qualité.
- D'interpréter les résultats par une personne expérimentée. La conclusion reprend clairement un des 5 types de profils standards.
- De réserver l'utilisation des anticorps anti chaînes légères libres à certains cas : forte suspicion de SEP sur la clinique ou l'IRM et des BOC IgG négatives (les Ac anti-CLL donnent des résultats positifs en présence d'IgA ou IgM).
- De répéter la ponction lombaire en cas de forte suspicion de SEP clinique mais sans BOC IgG ou avec une seule BOC IgG : ce type de profil peut évoluer secondairement vers un profil oligoclonal dans un tiers des cas (74).

1.4.3. Profil caractéristique du LCR dans la SEP

Aucune anomalie n'est spécifique de la SEP. L'ensemble des paramètres cytologiques et immunologiques permet l'établissement d'un profil du LCR évocateur de SEP, sous réserve d'un tableau clinique compatible (75) (voir *Tableau 4*):

- Hypercellularité modérée à 10 éléments en moyenne, une réaction plasmocytaire discrète, une protéinorachie et un Qalb normaux permettant de confirmer l'intégrité des échanges au niveau de la barrière sang-LCR.
- Synthèse intrathécale d'IgG mise en évidence par une augmentation de l'index IgG et/ou par la présence de bandes oligoclonales d'IgG spécifiques au LCR.

Le profil est comparable chez les enfants (âge de début < 16 ans), avec la même sensibilité (76).

Tableau 4 - Profil cyto-immunologique du LCR de SEP

Paramètre	Valeurs pour la SEP certaine et commentaires
Numération	Hypercellularité modérée dans 71% des cas avec une moyenne à 10 leucocytes/ mm ³ (75). Le diagnostic de SEP doit être reconsidéré si la réaction cellulaire est supérieure à 50 leucocytes/ mm ³ (52).
Formule	Formule cytologique inflammatoire dans 76% des cas (présence de cellules inflammatoires type lymphoplasmocytes et/ou plasmocytes) (75).
Protéinorachie	Protéinorachie normale ou légèrement augmentée avec une moyenne de 0,40 mg/l (75). Une autre pathologie inflammatoire du SNC doit être évoquée devant une protéinorachie supérieure à 0,80 mg/l.
Glycorachie	Glycorachie normale (49).
Qalb	Qalb normal dans 76% des cas (64) avec une moyenne à 5,7 x10 ⁻³ (75).

Techniques quantitatives	<ul style="list-style-type: none"> • Index IgG augmenté avec une moyenne à 1,04 (75). L'index IgG est plus élevé dans la population afro-américaine, avec une moyenne à 1,35 (35,77). Se = 69 à 77% (62,67,75), Sp = 87% (75) • Formule de Tourtelotte : Se = 64,2 à 72% (62,67) • Formule de Reiber : Se = 69,2 à 83% (62,67,78) (67) (62)
Techniques qualitatives	<ul style="list-style-type: none"> • IEF : présence de BOC avec une sensibilité et une spécificité supérieure à 90 voire 95%. Le profil 2 est le plus fréquent (75). Se = 91 à 95% (64,65) VPP = 85% VPN = 97% (75) Sp = 96% (75,66) • Immunofixation après électrophorèse sur agarose : Se et Sp comparable à l'IEF (68,66) Se = 90 à 95,5% (62,67,68) Sp = 87 à 95,4% (62,67,68) • Electrophorèse sur agarose haute résolution : sensibilité inférieure aux autres techniques Se = 56 à 84,2% (62,64,79) Sp = 78,9 à 99% (64,79) <p>Un profil oligoclonal peut être observé malgré un index IgG normal. L'index IgG est rarement élevé en l'absence de profil oligoclonal (38), et sa valeur n'est pas corrélée au nombre de BOC (80).</p>

Le *Tableau 5* présente les situations pathologiques associées à la présence de BOC IgG. Un bilan biologique minimal peut être réalisé afin d'écartier les diagnostics différentiels. Un consensus formalisé d'experts a émis des recommandations pour la réalisation du bilan sérique utile devant une suspicion de SEP (81).

Tableau 5 - Situations pathologiques associées à la présence de BOC d'IgG (65)

Situations pathologiques	Incidence des BOC IgG
SEP	>95%
Infections neurotropes : méningites, encéphalites, méningo-encéphalites, méningomyélites et myélites infectieuses, aiguës, subaiguës ou chroniques (Exemples : neurosyphilis, neurolyme, leucoencéphalite subaiguë sclérosante, neuro-VIH, neuro-cysticercose)	>90%
Complications neurologiques des maladies auto-immunes systémiques (Exemples : neuro-lupus, neuro-sarcoïdose, neuro-Behçet)	50%
Pathologies tumorales du SNC Syndromes neurologiques paranéoplasiques Lymphomes du SNC	60% <5%

La fréquence de la SIT dans la SEP est élevée mais hétérogène, suggérant une hétérogénéité des mécanismes auto-immuns (82). Plus de 95% des patients SEP présentent des BOC IgG dans le LCR. La présence de BOC IgG uniquement dans le LCR est le profil majoritaire dans la SEP. Un groupe de SEP présente des BOC dans le sérum et des BOC additionnelles dans le sérum. Un groupe minoritaire de SEP (< 5 à 10%) semble indemne de BOC IgG, suggérant à certains auteurs que la SIT pourrait être inconstante.

L'analyse du LCR ne présente pas d'intérêt pour le suivi des patients atteints de SEP (35). Chaque patient a un profil unique de BOC (une « empreinte digitale » de BOC) (23). Le profil de BOC apparaît précocement dans la SEP et une fois acquis, ne disparaît jamais avec le temps, quelque soient les traitements reçus, même si des changements d'intensité de bandes ou une acquisition de nouvelles bandes peuvent arriver (35,83).

L'implication des IgM dans la SEP et des chaînes légères libres kappa a été récemment soulignée, conférant une progression plus sévère de la maladie (82,84,85). Néanmoins, le dosage des IgM et IgA avec calcul des index, la recherche ou le dosage des chaînes légères kappa (Se = 83,8 à 100%, Sp = 81 à 93% (83,86,87)) et lambda, n'ont pas fait la preuve de leur utilité diagnostique dans la SEP et ne sont pas recommandés.

1.5. Travaux de Reiber

1.5.1. Les différents concepts à la base du diagramme de Reiber

Dans les années 1980, les techniques de focalisation isoélectrique n'étaient réalisables que par un très petit nombre de laboratoires (71). Plusieurs équipes ont donc recherché la formule idéale pour mettre en évidence une SIT (Tibbling et al. (58), Tourtelotte et Ma (61), Schuller et Sagar (88)). Les travaux de Reiber et Felgenhauer ont été à la base de nouveaux concepts sur le fonctionnement de la barrière sang-LCR.

Sur une période de trois ans, Reiber et Felgenhauer (89) ont déterminé les quotients (concentration LCR / concentration sérum) de l'albumine, des IgG, IgA et IgM chez des patients sans SIT, avec ou sans altération de fonctionnement de la barrière sang-LCR. Une liste d'états pathologiques induisant une altération du fonctionnement de la barrière sang-LCR inclus dans l'étude a été établie :

- Tumeurs cérébrales et spinales sauf lymphome non-Hodgkinien, leucémie, carcinome métastatique, dysgerminome, tumeur après opération.
- Premiers jours d'une méningite bactérienne ou virale.
- Infarctus aigu du cerveau sauf embolisation métastatique, angéite, infarctus dans les maladies systémiques auto-immunes.
- Phase initiale d'un syndrome de Guillain-Barré.
- Polyneuropathies sauf paranéoplasique, dans les maladies systémiques auto-immunes, neurolyme.
- Maladies dégénératives du SNC.

Le nombre total de patients inclus est 451 pour les IgG et 396 pour les IgA et IgM.

Ils ont placé les données sur des graphiques avec en abscisse le Q_{alb} , et en ordonnée le Q_{IgG} ou le Q_{IgA} ou le Q_{IgM} . La relation entre Q_{Ig} et Q_{alb} suit une fonction, non pas linéaire, mais hyperbolique. L'équation de la limite supérieure du nuage de points a été déterminée :

$$Q(IgX) = a/b \sqrt{Q_{alb}^2 + b^2} - c$$

La valeur des coefficients a, b et c est propre à chaque Ig.

Cette courbe Qlim représente la discrimination entre un transfert passif dans le LCR et une synthèse locale d'une Ig.

Dans un second temps, Reiber a étendu ses données à 4380 patients (63) présentant des pathologies neurologiques variées sans SIT. Ses critères d'inclusion étaient :

- Absence de BOC IgG dans le LCR (par IEF en gel de polyacrylamide).
- Absence de synthèse locale d'IgA et IgM selon ses diagrammes établis précédemment, et $QIgA < QIgG$, $QIgM < QIgA$ (89).
- Absence d'hémorragie intracérébrale.
- Absence de contamination sanguine.
- Pas de patients après une neurochirurgie ou un traumatisme crânien.
- Cellules $< 4 /\mu l$ pour un $Qalb < 8 \times 10^{-3}$.

Il a calculé les lignes inférieure Qlow et supérieure Qlim afin d'inclure 99% des données entre ces deux limites (voir *Figure 7*). Cette méthodologie considérait que l'inclusion de 99% des données pouvait être admise comme équivalent à $Qmean \pm 3$ déviations standards. Il observe une distribution symétrique autour de la moyenne.

Tableau 6 - Constantes *a*, *b* et *c* de la fonction hyperbolique (63,89) (entre parenthèses les valeurs obtenues après la première étude à titre de comparaison)

IgX	courbe	a/b	b²	c
IgG	Lim	0,93 (0,8)	6 (15)	1,7 (1,8)
	Mean	0,65	8	1,4
	Low	0,33	2	0,3
IgA	Lim	0,77 (0,72)	23 (80)	3,1 (5,1)
	Mean	0,47	27	2,1
	Low	0,17	74	1,3
IgM	Lim	0,67 (0,65)	120 (150)	7,1 (7,5)
	Mean	0,33	306	5,7
	Low	0,04	442	0,82

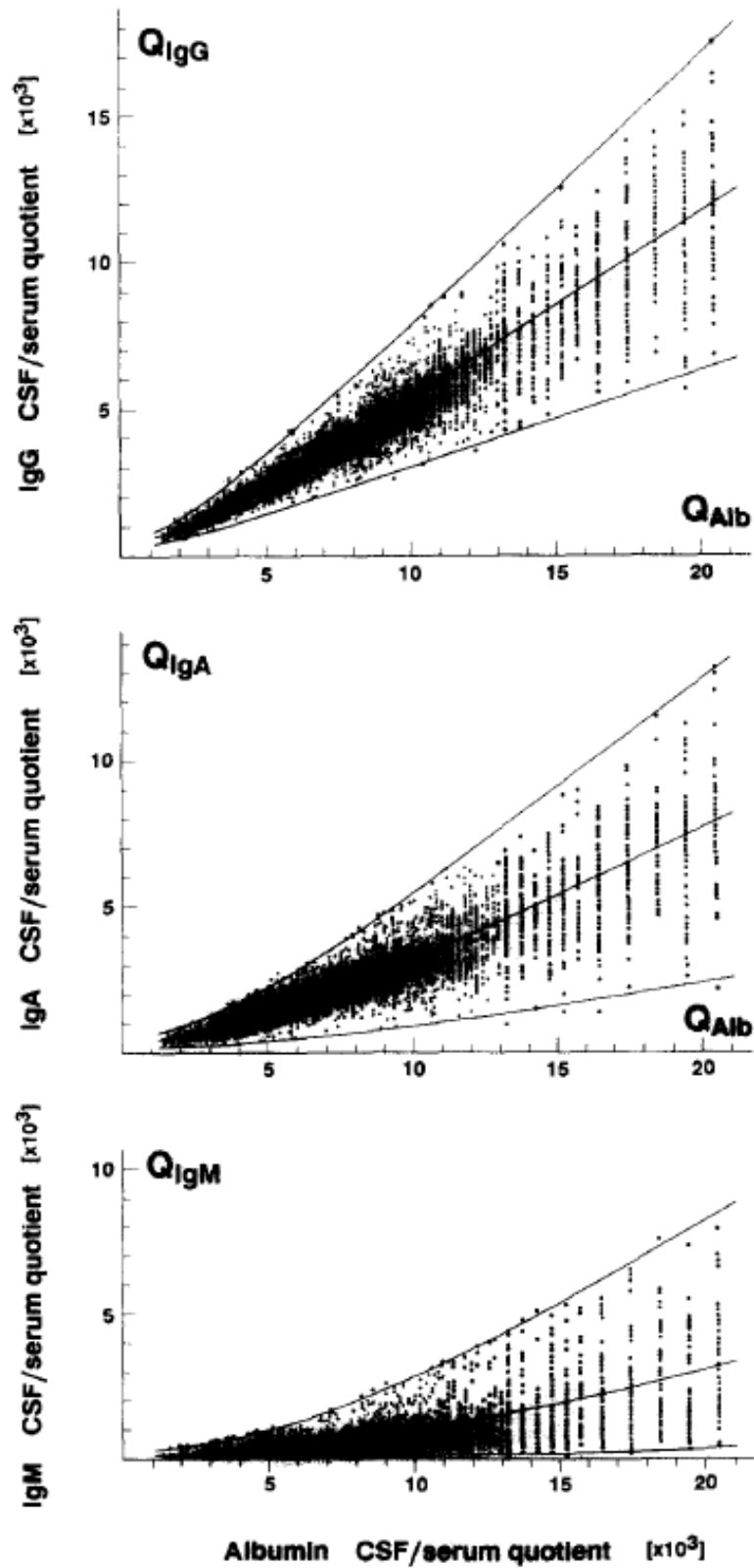


Figure 7 – Quotients LCR/serum pour les IgG, IgA et IgM (Q_{IgG} , Q_{IgA} , Q_{IgM}) en fonction du quotient LCR/sérum de l'albumine (Q_{Alb}) (63)

Cette observation a permis à Reiber d'élaborer la théorie du flux moléculaire/débit du LCR. Selon cette théorie, le débit de LCR est le modulateur des concentrations des protéines plasmatiques et cérébrales dans le LCR (63,90,91). L'altération du fonctionnement de la barrière sang-LCR serait en fait liée à une diminution du flux de LCR. Cette théorie remplace l'ancienne conception selon laquelle l'augmentation de la concentration en protéines dans le LCR serait due à l'apparition de « brèches dans la barrière hémato-encéphalique » (71).

Rappels de physiologie. Au sein du SNC, le LCR occupe les espaces leptoméningés, péri-cérébraux et spinaux, ainsi que les ventricules cérébraux, soit un volume total chez l'adulte de $140 \text{ ml} \pm 30 \text{ ml}$ (56). Le LCR est produit essentiellement au niveau des plexus choroïdes des ventricules cérébraux. Le LCR passe depuis les ventricules vers les citernes et les espaces sous arachnoïdiens péri-cérébraux et péri-médullaires. Il se déverse finalement dans le système veineux à travers les villosités arachnoïdiennes, appelées granulations de Pacchioni, situées au niveau du sinus supérieur et au niveau de la moelle (70,78) (voir *Figure 8*). La production de LCR varie avec l'âge : elle est de l'ordre de 500 ml/j chez le jeune adulte (0,4 ml/min) et chute à 250 ml/j chez la personne âgée (0,19 ml/min).

Les échanges entre système nerveux, sang et LCR sont sous le contrôle de 3 barrières :

- Hémato-encéphalique (sang/système nerveux) : BHE,
- Encéphalo-méningée (système nerveux/LCR),
- Hémato-méningée (sang/LCR).

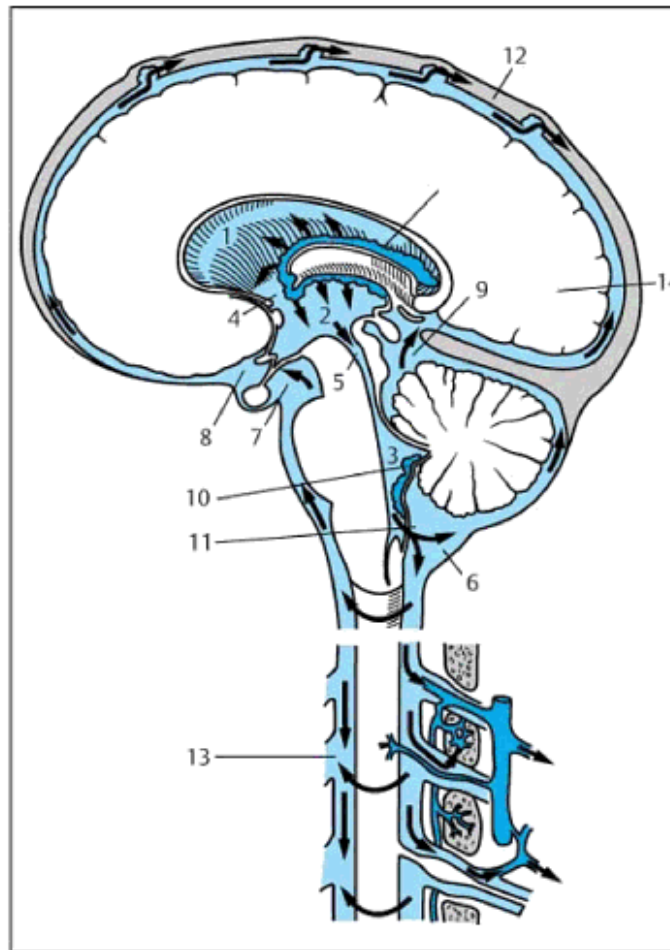


Fig. 1.1 Subarachnoid space, CSF flow, and molecular diffusion. Produced by the choroid plexus of the ventricular system (1, first and second lateral ventricles; 2, third ventricle; 3, fourth ventricle with the two lateral apertures), the CSF flows through various apertures (4, interventricular foramen, also called foramen of Monro; 5, cerebral aqueduct, also called aqueduct of Sylvius; followed by the lateral foramina of Luschka and the median foramen of Magendie) into the cisterns (6, cerebellomedullary cistern; 7, inter-peduncular cistern; 8, chiasmatic cistern; 9, ambient cistern), after which the subarachnoid space branches into a cerebral and a spinal space, and branch. Passing through these, the CSF then drains through the arachnoid villi into the venous blood.

Figure 8 – *Physiologie du LCR* (50)

Toutes les protéines plasmatiques traversent les capillaires par diffusion passive (flux moléculaire). Lorsque la concentration plasmatique d'une protéine augmente, sa concentration dans le LCR augmente : il s'établit un gradient qui est constamment à l'équilibre. Il existe une relation non linéaire entre la baisse du débit de LCR et l'augmentation du flux moléculaire de protéines plasmatiques dans le LCR : elle suit une fonction hyperbolique qui dépend du poids moléculaire des protéines (donc de leur coefficient de diffusion). Les plus grosses molécules comme les IgM ont des échanges plus lents que les molécules plus petites comme l'albumine ou les IgG (leurs coefficients de diffusion sont différents). En effet, l'allure des courbes est différente pour chaque protéine. En moyenne, une molécule d'IgG du sérum sur 500 passe passivement dans le LCR contre un ratio de 1 pour 200 pour l'albumine (78,92).

Le ralentissement du flux de LCR est un phénomène courant dans les maladies neurologiques. Les causes de ce ralentissement peuvent être (78) :

- Une diminution de la production de LCR,
- Une baisse du flux dans l'espace sous-arachnoïdien,
- Un obstacle à l'écoulement dans les villosités arachnoïdiennes.

La conséquence de cette diminution du flux de LCR est l'augmentation de la concentration des protéines d'origine plasmatique dans le LCR, décrite comme une altération du fonctionnement de la barrière sang-LCR, due à (78) :

- Une diminution du volume de LCR échangé,
- Et une augmentation du flux moléculaire net dans le LCR sans changement des coefficients de perméabilité donc de la sélectivité (ce sont les gradients dans les tissus du SNC qui changent). Il n'existe pas de changement dans la structure de la barrière sang-LCR.

La concentration d'une protéine d'origine plasmatique dans le LCR dépend donc de sa concentration dans le plasma, de sa taille (qui influence sa diffusion dans le LCR), du niveau auquel on réalise la ponction (lombaire ou ventriculaire) et du débit de LCR dans l'espace sous arachnoïdien.

D'autres protéines comme la bêta-trace, la bêta-2-transferrine, la cystatine C et la protéine S100, synthétisées dans le SNC, diffusent également du SNC vers le LCR. Ce dernier s'enrichit donc constamment en protéines lors de son trajet au niveau cérébral et périmédullaire (la concentration en protéines du LCR est 2,5 fois plus élevée au niveau lombaire qu'au niveau ventriculaire (78)).

La protéinorachie est composée en majorité d'albumine (qui ne provient jamais du SNC puisque synthétisée uniquement au niveau du foie). Il n'existe pas de production locale d'IgG dans le LCR normal, celles que l'on y retrouve sont d'origine sérique.

L'âge a une importante influence sur le flux de LCR, et donc sur la barrière sang-LCR. A la naissance, le flux de LCR est très faible en raison de l'immaturation des villosités arachnoïdiennes, puis il augmente au cours des premiers mois de vie jusqu'à une valeur maximale aux environs de l'âge d'un an et se stabilise. A partir de 5 ans, il commence à

diminuer et cette diminution est constante au cours de la vie. En conséquence, le Qalb est très élevé à la naissance et diminue au cours des quatre premiers mois de vie. Il atteint une valeur minimale à l'âge d'un an et se stabilise. A partir de 5 ans, le Qalb augmente. En raison de l'importante répercussion de l'âge sur le fonctionnement de la barrière sang-LCR, les différents coefficients devront être interprétés en fonction de l'âge du patient.

1.5.2. Diagramme de Reiber ou « Reibergramme »

A partir de ses données expérimentales, Reiber a créé un diagramme (« Reibergramme ») afin de faciliter l'interprétation des résultats des dosages. Il existe un diagramme spécifique pour chaque classe d'Ig.

Le diagramme en échelle logarithmique représente le $QIg(X)$ en fonction du Qalb. Les normales moyennes (Q_{mean}) sont encadrées par les courbes Q_{lim} et Q_{low} .

La zone au-dessus de Q_{lim} correspond à une SIT. La zone en-dessous de Q_{low} correspond à une zone de valeurs physiologiquement impossibles (index erroné suite à une erreur de dosage, d'unités, ou d'identification d'échantillon).

Un autre critère doit être pris en considération pour l'interprétation des données : l'existence d'une éventuelle altération de la barrière sang-LCR (ralentissement du flux de LCR). Elle est estimée sur la base de la valeur du Qalb par rapport au Qalb limite pour l'âge du patient. Sur l'abscisse du diagramme, il y a 3 traits qui correspondent à 3 tranches d'âge. Lorsque l'index est situé dans la zone à gauche du Qalb limite, il n'y a pas d'altération de la barrière sang-LCR. Lorsque l'index est situé dans la zone à droite du Qalb limite, il y a altération de la barrière sang-LCR (ralentissement du flux de LCR).

Le diagramme est donc partagé en 5 zones. L'intersection entre le Qalb et le QIg du patient donne un point, qui, suivant la zone dans laquelle il se trouve, indique s'il existe une SIT d'IgG et/ou une dysfonction de la barrière.

- 1 : zone des valeurs normales
- 2 : altération de la barrière sans synthèse intrathécale
- 3 : synthèse intrathécale et altération de la barrière
- 4 : synthèse intrathécale sans altération de la barrière
- 5 : zone des résultats physiologiquement impossibles

La *Figure 9* montre les diagrammes de Reiber pour les IgG, IgA et IgM pour un patient atteint de neurolyme (échelle logarithmique).

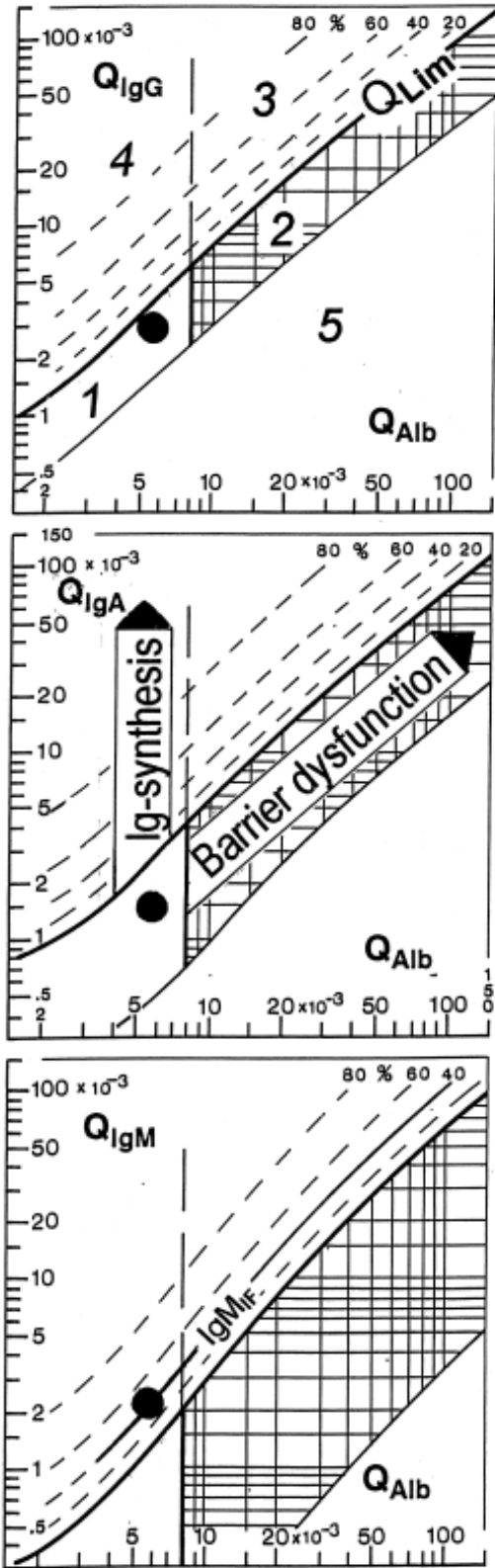


Figure 9 – Exemples de diagrammes de Reiber pour les IgG, IgA et IgM (92)

Des formules permettent de quantifier la synthèse intrathécale :

- Calcul de la quantité d'Ig synthétisée localement IgX (loc) en mg/l:

$$IgX(loc) = [Q(IgX) - Qlim(IgX)] \times IgX \text{ sérique}$$

$$\text{Avec } Qlim(IgX) = a/b \sqrt{Qalb^2 + b^2} - c$$

- Ou calcul de la fraction intrathécale Ig IF en % :

$$Ig IF = \left[1 - \frac{Qlim(IgX)}{Q(IgX)} \right] \times 100$$

L'importance de la synthèse intrathécale d'Ig est estimée en pourcentage sur le diagramme : 20, 40, 60, 80% (avec Qlim correspondant à 0% de SIT). La SIT est significative si elle est supérieure à 10% (92).

1.5.3. Intérêts et limites des travaux de Reiber dans le diagnostic de SEP

Pour détecter quantitativement une SIT d'IgG, on peut utiliser des approches :

- Linéaires : index IgG (58), taux de synthèse d'IgG de Tourtelotte (61),
- Hyperboliques : format numérique (IgG loc) ou graphique (diagramme de Reiber) (92).

Reiber a montré que la relation entre QIgG et Qalb n'est pas linéaire mais hyperbolique (théorie du débit de LCR/flux moléculaire). L'utilisation de la fonction hyperbolique évite les faux positifs induits par l'index IgG (jusqu'à 50%) et la formule de Tourtelotte (jusqu'à 90%) quand le Qalb est élevé.

De plus, le taux de synthèse d'IgG de Tourtelotte est calculé pour un volume standard de 500 ml de LCR produit par jour alors que la production de LCR varie d'un facteur 3 entre 5 et 80 ans. L'utilisation de l'index IgG engendre également des faux positifs lorsque le Qalb est faible (par exemple chez les enfants) parce qu'une seule valeur de référence est utilisée pour toute la gamme (92).

Dans la SEP, le Qalb est généralement normal (74% des cas (75)) ou peu augmenté : la sensibilité du modèle hyperbolique de Reiber est proche de celle de l'index IgG (environ 70% (78)), et reste largement inférieure à celle de la technique gold standard (IEF).

La société Siemens (Date-Behring) a commercialisé des logiciels capables d'effectuer les différents calculs permettant de positionner les données sur le diagramme, de déterminer le pourcentage d'IgG synthétisées dans le SNC, d'interpréter les résultats en fonction de l'âge et de générer un commentaire : programme SEPP (Système Expert Profils Protéines) basé sur l'adaptation française du diagramme de Reiber (diagramme de Fateh Moghadam) ou programme Protis, et sa version 2007 Protis 2 basé sur le diagramme de Reiber. Les résultats peuvent être introduits manuellement dans un PC indépendant ou traités directement par un ordinateur connecté au néphélomètre.

Plusieurs études ont testé leurs performances en comparant les commentaires générés à la recherche de BOC et à la valeur de l'index IgG (54,71) (voir *Tableau 7*).

Tableau 7 - Résultats des différents programmes et de l'index IgG (71)

	SEPP	Protis	Protis 2	Index IgG > 0,7
Se	77%	59%	50%	63%
Sp	84%	95%	98%	96%
VPP	62%	79%	89%	84%
VPN	91%	87%	85%	88%

Les programmes Protis manquent de sensibilité. Protis 2 présente un haut degré de spécificité mais une faible sensibilité. SEPP a une sensibilité plus élevée que les autres programmes et que l'index IgG. C'est le meilleur test de dépistage mais il ne permet pas d'exclure la maladie lorsqu'il ne détecte pas de SIT.

Cette étude démontre une nouvelle fois la supériorité de l'IEF sur les techniques quantitatives pour le diagnostic des maladies inflammatoires du SNC et de la SEP.

Le modèle hyperbolique de Reiber ne s'utilise pas seulement pour les Ies IgG, mais aussi pour les IgA et IgM (49). Il s'agit de la seule méthode permettant de détecter la présence d'une, deux, ou trois classes d'Ig dans le LCR. L'IEF n'est pas disponible en routine pour détecter les IgA et IgM (49,93). La réponse immune dans le SNC est fondamentalement différente : il ne se produit pas de switch de synthèse IgM à IgG. Cela entraîne la production d'Ig dont le profil est relativement spécifique de maladies.

Dans la SEP, la SIT se compose très majoritairement d'IgG (fréquence d'IgM de 30 à 60% (51), IgA 9% (57)) . La détection d'une SIT d'IgA ou IgM peut être surtout utile au diagnostic différentiel, par la reconnaissance d'un profil type d'une maladie (49,78,92) (voir *Tableau 8*).

Tableau 8 - *Profil de réponse immune humorale dans le SNC lors de la première ponction lombaire (diagnostic) (49,57,92)*

Type de réaction	Diagnostic
Absence d'IgG, IgA, IgM	Méningite bactérienne et encéphalite virale précoce Guillain-Barré
Prédominance d'IgG	SEP Neurosyphilis Encéphalite chronique HIV
Prédominance d'IgA	Neurotuberculose Abscess cérébral Adrénoleucodystrophie
Prédominance d'IgM	Neurolyme Lymphome non-Hodgkinien avec atteinte du SNC
IgG + IgA + IgM	Infections opportunistes (CMV, toxoplasmose)

2.1. Objet de l'étude

Nous avons mené une étude rétrospective, mono-centrique, observationnelle, sur tous les couples LCR/sérum analysés au laboratoire du Centre Hospitalier de Pau pour lesquels était prescrite une focalisation isoélectrique des protéines.

L'objectif principal est de valider les normes de Reiber sur notre cohorte de patients témoins puis d'étudier leurs performances dans la mise en évidence de la SIT dans notre cohorte de patients SEP.

Les objectifs secondaires sont :

D'étudier l'intérêt de la mise en place au laboratoire du diagramme de Reiber dans le diagnostic biologique de la sclérose en plaques ;

D'examiner la possibilité d'une synthèse intrathécale infraliminaire dans les SEP (et syndromes cliniques isolés susceptibles de convertir en SEP) à ponction lombaire normale (index IgG normal et absence de BOC).

2.2. Méthodologie

2.2.1. Recueil des données

Nous avons effectué une extraction sur le système informatique du laboratoire de tous les couples LCR/sérum pour lesquels était prescrite une focalisation isoélectrique des IgG, sur la période mars 2005 à décembre 2014.

Pour chaque demande, les données extraites sont les suivantes : nom, prénom, date de naissance, sexe, numéro de dossier, protéinorachie (g/l), IgG LCR (g/l), albumine LCR (g/l), index IgG, Qalb, résultat de l'IEF, leucocytes LCR, hématies LCR. Ces données ont été regroupées dans un tableur Microsoft Excel.

Nos critères d'inclusion sont :

- Présence de toutes les données chiffrées ;
- QIgG calculable ;
- IEF effectuée.

Nos critères d'exclusion sont :

- Hématies $> 100 /\text{mm}^3$: contamination sanguine du LCR rendant les techniques quantitatives ininterprétables ;
- Qalb $> 10 \times 10^{-3}$: forte altération de la barrière sang/LCR, peu de patients.

L'objectif était ensuite de disposer du diagnostic final dans tous les dossiers inclus afin de constituer une cohorte de témoins, indemnes de SIT, triés cliniquement. Ce paramètre nécessitant la lecture, un à un, de tous les dossiers cliniques (antécédents, courriers de sortie, résultats des examens complémentaires) à la recherche du diagnostic final, nous avons décidé, par contrainte de temps, de limiter la recherche à trois intervalles de Qalb (de 0 à 4,2, de 5,5 à 6,9 et de 7,7 à 10×10^{-3}), par consultation des dossiers informatiques des patients sur le logiciel Clinicom, en collaboration avec un clinicien. Les trois intervalles de Qalb sont représentés sur la *Figure 10*.

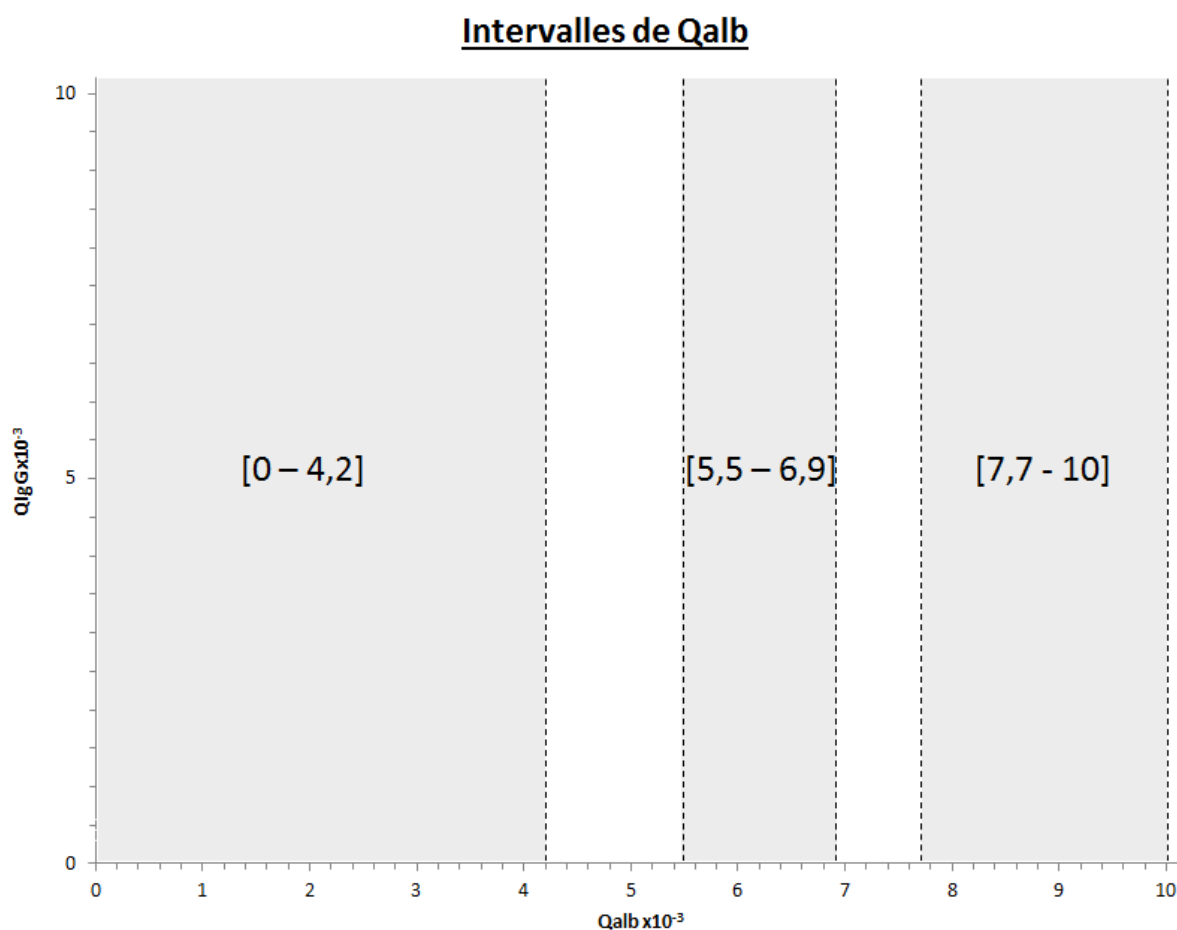


Figure 10 – *Intervalles de Qalb*

La liste des patients porteurs d'une maladie neurologique inflammatoire du spectre de la SEP et suivis au CH de Pau (SEP définie, SCI, atteintes optiques ou médullaires isolées ou récidivantes, NMO) était extraite de la base de données du service de neurologie (base EDMUS, Dr Bonnan). Nous l'avons recoupée avec la liste des patients obtenus par l'extraction. Les données cliniques détaillées de ces patients (imagerie, paramètres évolutifs, diagnostic initial et final) étaient recueillies par le clinicien.

Les patients inclus ont été classés en trois groupes, selon qu'une synthèse intrathécale est connue, possible, ou non connue dans la pathologie retenue. Le *Tableau 9* détaille les situations pathologiques dans lesquelles une SIT est connue, possible, ou non connue.

Tableau 9 – *Situations pathologiques dans lesquelles une SIT est connue, possible, ou non connue*

<p>SIT : « non »</p>	<p>Pathologies neurologiques fonctionnelles (ex : migraine, épilepsie) Affections neuro-dégénératives non connues pour être associées à une SIT (ex : Sclérose latérale amyotrophique, Alzheimer) (50,70) Syndromes non organiques Maladies non neurologiques Absence de pathologie</p>
<p>SIT : « possible »</p>	<p>Maladies inflammatoires systémiques sans atteinte neurologique démontrée (ex : lupus) Maladies infectieuses sans atteinte neurologique démontrée (ex : lyme) Pathologies vasculaires cérébrales (83) Pathologies ophtalmologiques inflammatoires pouvant atteindre le SNC Pathologies neurologiques diverses dont l'absence ou la présence d'une SIT est discutée ou rarement décrite (ex : leucodystrophie) (50,83) Lymphome périphérique</p>
<p>SIT : « oui »</p>	<p>Maladies inflammatoires systémiques avec atteinte neurologique (48,83) Maladies infectieuses avec atteinte cérébro-méningée (50) Maladies inflammatoires du SNC (65) Syndromes neurologiques paranéoplasiques (83) Lymphome cérébral (65) Tumeurs cérébrales (65)</p>

La population témoin triée cliniquement est définie de la façon suivante :

- Patients dont la pathologie ne présente pas de SIT théorique connue ;
- Résultats biologiques congruents (profil négatif à l'IEF, index IgG normal, et leucocytes LCR $\leq 5/\text{mm}^3$).

2.2.2. L'examen cyto-immunologique du LCR au laboratoire du CH de Pau

Le déroulement des examens effectués au laboratoire du CH de Pau sur les prélèvements de sang et de LCR, ainsi que les techniques employées, sont présentés dans la *Figure 11*.

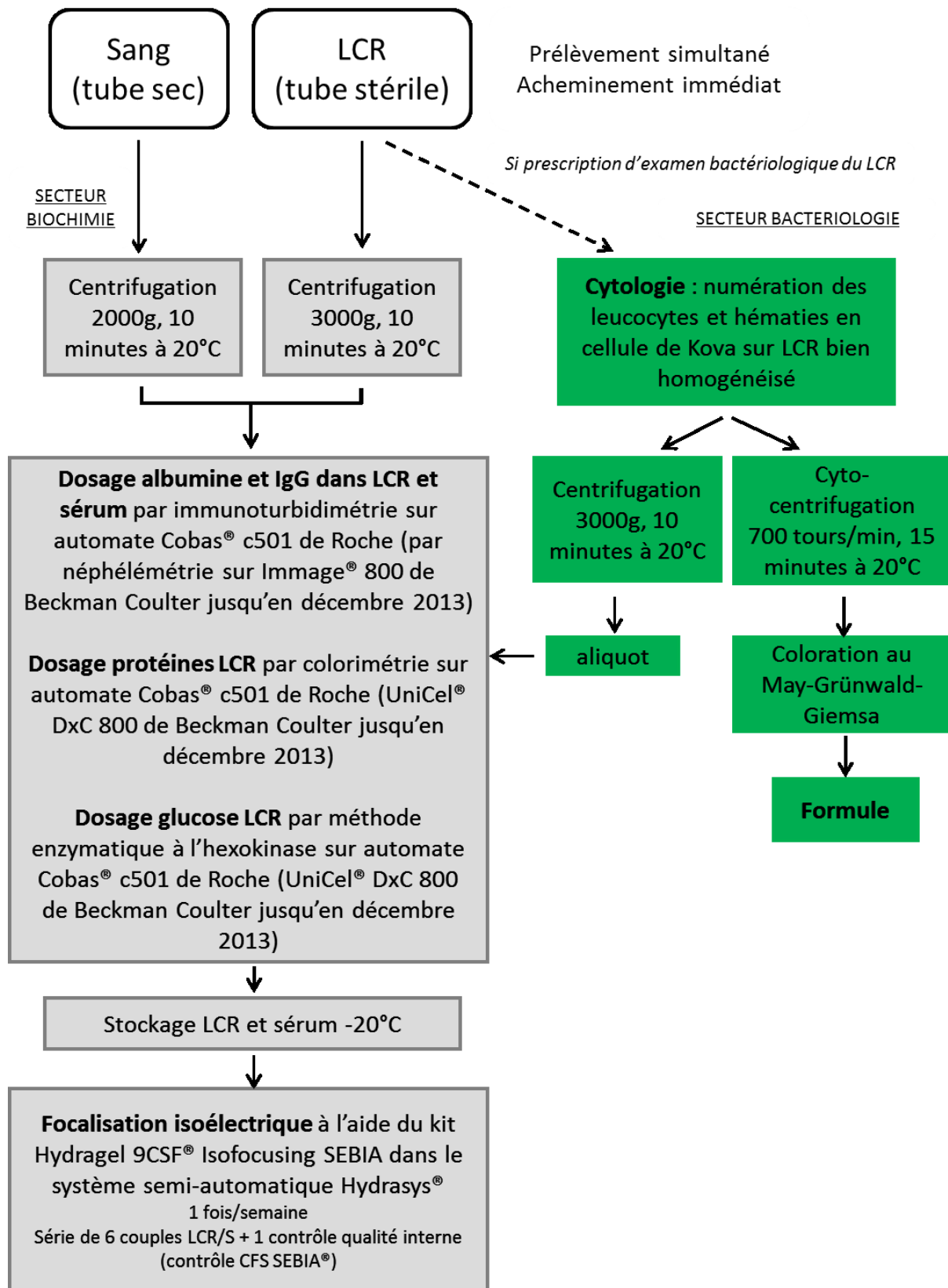


Figure 11 - L'examen cyto-immunologique du LCR au laboratoire du CH de Pau

2.2.3. Quotient albumine

Le Qalb est calculé à partir du dosage de l'albumine dans le LCR et dans le sérum.

Les valeurs de Qalb sont calculées par le système informatique du laboratoire, et les résultats sont obtenus directement par extraction.

2.2.4. Quotient IgG

Le QIgG est calculé à partir du dosage des IgG dans le LCR et dans le sérum.

Cependant, l'extraction sur le système informatique du laboratoire ne nous permet pas d'obtenir les valeurs QIgG ni IgG S. Nous obtenons donc la valeur du QIgG par un re-calcul selon la formule suivante :

$$QIgG = Qalb \times index\ IgG$$

2.2.5. Index IgG

L'index IgG est calculé à partir du dosage des IgG et de l'albumine dans le LCR et le sérum.

Les valeurs de l'index IgG sont calculées par le système informatique du laboratoire, et les résultats sont obtenus directement par extraction.

2.2.6. Diagramme de Reiber

Le diagramme permet de positionner QIgG en fonction de Qalb. Nous traçons les courbes Qlim, Qmean et Qlow selon les formules déterminées par Reiber pour les IgG (63) (voir *Figure 12*).

Diagramme de Reiber

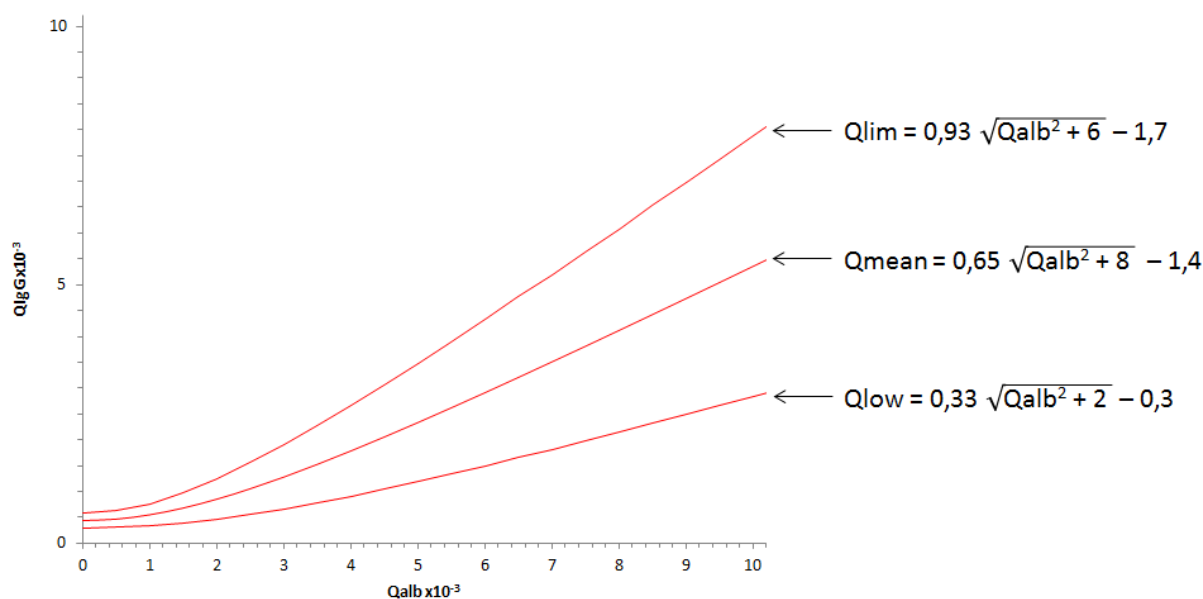


Figure 12 – *Diagramme de Reiber*

2.2.7. Interprétation de l'IEF

L'interprétation de l'IEF est visuelle par comparaison du profil de distribution des IgG du LCR à celui du sérum déposé en parallèle, selon les 5 profils classiquement décrits (65).

Nous retenons positifs (présence d'une SIT : BOC+) les profils 2 et 3 (à partir de deux BOC). Le nombre de BOC est précisé sur le compte rendu, de 1 à 10 puis > 10. Nous retenons négatifs (absence de SIT : BOC-) les profils 1, 4 et 5.

Les patients présentant une pathologie clinique non connue pour être associée à une SIT mais dont le profil est « d'aspect suspect », c'est-à-dire présentant une seule BOC dans le LCR sont, par précaution, exclus de la sélection des témoins.

2.2.8. Statistiques

Nous avons réalisé l'étude statistique sur le logiciel SAS version 9.4. Elle a permis d'évaluer la répartition des points sur les diagrammes : disposition par rapport à la courbe moyenne, ou répartition relative de deux groupes de patients. Nous avons déterminé la variable centrée réduite suivante :

$$\frac{QIgG - Qmean}{SD}$$

La procédure MEANS nous a servi à effectuer le test de Student de comparaison d'une moyenne à une valeur fixée (zéro). Les hypothèses du test sont $H_0 \text{ moy} = 0$ versus $H_1 \text{ moy} \neq 0$. Nous avons pris $\alpha = 5\%$:

Si $p < 0,05$ le test est significatif : on rejette alors l'hypothèse H_0 .

Si $p > 0,05$ le test est non significatif : on ne rejette pas l'hypothèse H_0 .

La procédure TTEST nous a servi à effectuer le test de Student de comparaison entre deux moyennes. Les hypothèses du test sont $H_0 \text{ moy}_1 = \text{moy}_2$ versus $H_1 \text{ moy}_1 \neq \text{moy}_2$. Le résultat du test d'égalité de variances nous permet de choisir la bonne p-valeur du test de Student. Nous concluons de la même façon qu'avec la procédure MEANS.

Nous avons évalué les performances diagnostiques en terme de sensibilité Se (probabilité d'avoir un test positif en cas de SEP), spécificité Sp (probabilité d'avoir un test négatif en l'absence de SEP), valeur prédictive positive VPP (probabilité d'avoir une SEP quand le test est positif) et valeur prédictive négative VPN (probabilité de ne pas avoir une SEP quand le test est négatif). Le groupe des SEP a été comparé au groupe de patients « SIT non », c'est-à-dire patients sans SIT théorique connue.

PARTIE 3 : Résultats

3.1. Description de la cohorte

Nos critères de sélection nous ont permis de retenir 1178 dossiers sur les 2031 couples LCR/sérum pour lesquels était prescrite une focalisation isoélectrique des IgG, sur la période mars 2005 à décembre 2014 (voir *Tableau 10*).

Tableau 10 - *Sélection de notre cohorte*

Nombre total de demandes d'IEF sur la période mars 2005–décembre 2014	2031
Nombre de dossiers incomplets	165
Nombre de dossiers exclus pour contamination sanguine du LCR (GR > 100/ mm ³)	348
Nombre de dossiers avec des données non exploitables (résultat IgG LCR : < 0,01 g/l)	2
Nombre de dossiers avec Qalb > 10 x10 ⁻³	338
Nombre final de dossiers inclus	1178

Le *Tableau 11* décrit les caractéristiques de la population totale. La moyenne d'âge est de 52 ans. Le sexe féminin représente 56% des patients.

Nous avons recueilli les renseignements cliniques pour les 876 dossiers dont les valeurs de Qalb se situaient dans les bornes fixées. Un diagnostic n'avait pu être posé avec précision chez 102 patients. Le dossier clinique était perdu pour 8 patients. Les autres patients ont été classés en 3 groupes, selon qu'une synthèse intrathécale est connue, possible, ou non connue dans la pathologie. Le *Tableau 12* détaille les pathologies des patients dont les renseignements cliniques ont été recherchés.

Tableau 11 - Description de notre population totale

	Dossiers non ouverts	Diagnostics non connus	SIT : « non »	SIT : « possible »	SIT : « oui »	Population totale
Nombre	302	118	282	199	277	1178
Age moyen	54 ans	48 ans	54 ans	56 ans	46 ans	52 ans
% femmes	51 %	61,9 %	52,1 %	51,3 %	59,6 %	56%
% BOC+ et/ou index IgG > 0,70	11,9 %	8,5 %	4,2 %	10,5 %	45,8 %	17,2 %

Les patients du groupe SIT « non » présentent majoritairement des pathologies neurologiques, en particulier neuro-dégénératives pour lesquelles aucune SIT n'a été jusqu'à présent décrite. Les patients du groupe SIT « possible » présentent majoritairement des pathologies vasculaires cérébrales, des pathologies neurologiques d'étiologie inconnue ou dont l'absence ou la présence d'une SIT est discutée ou rarement décrite.

Le groupe SIT « oui » est largement composé de patients présentant des maladies neurologiques inflammatoires, SEP en particulier. Par ailleurs, au sein de ce dernier groupe, 45,8% des patients ont un profil de BOC positif, témoignant de la SIT IgG décrite mais non constante dans ces pathologies (contre respectivement 4,2% et 10,5% dans les groupes SIT « non » et SIT « possible » témoignant possiblement d'antécédents neuroinfectieux non rappelés).

Tableau 12 - Description des pathologies des patients dont le diagnostic a été recherché

Groupe clinique	n	%
SIT: "non"	282	32,2%
pathologies neurologiques	182	20,8%
pathologies neuro-dégénératives	65	7,4%
sclérose latérale amyotrophique	24	2,7%
maladie d'Alzheimer	15	1,7%
démence fronto-temporale	8	0,9%
maladie de Parkinson	7	0,8%
paralysie supranucléaire progressive	3	0,3%
paraparésie spastique progressive	3	0,3%
autres (<i>maladie à corps de Lewy (1), pathologie dégénérative du tronc cérébral (1), dégénérescence cortico-basale (1), atrophie multisystématisée (1), maladie de Huntigton (1)</i>)	5	0,6%
migraines/céphalées	34	3,9%
épilepsie (hors syndrome néo/paranéoplasique)	27	3,1%
vertiges	6	0,7%
neuropathies périphériques d'étiologie connue (<i>carentielle (9), diabétique (4), de réanimation (1)</i>)	14	1,6%
troubles d'origine mécanique (<i>canal carpien myélinique (1), compression (5), contusion médullaire (1), dilatation canalaire (1), canal cervical étroit (1), canal lombaire étroit (2), fistule durale (1), myélopathie cervicarthrosique (2), lésion post-traumatique (3)</i>)	17	1,9%
divers (<i>confusion (4), radiculopathie (4), lacune (2), ictus amnésique (1), hypertension intra-crânienne idiopathique (3), névralgie cervicobrachiale (1), cérébellite éthylique (1), syndrome de Sneddon (1), syndrome de Melkersson-Rosenthal (1), hydrocéphalie à pression normale (1)</i>)	19	2,2%
pathologies non neurologiques ou périphériques	100	3,8%
troubles d'origine musculaire (<i>myosite à inclusion (2), myasthénie (3), crampes (1)</i>)	6	0,7%
troubles d'origine ophtalmologique (<i>mydriase par erreur de collyre (1), neuropathie optique ischémique antérieure (2), occlusion de l'artère centrale de la rétine (2), rétinopathie diabétique (2), uvéite de Birshot (1), neuropathie optique alcoolique (1), myopie (1)</i>)	10	1,1%
divers (<i>cirrhose décompensée (2), hépatite (2), douleurs dentaires (1), douleurs post-chirurgicales (1), douleurs rhumatologiques (3), endocardite (1), syncope cardiogénique (1), réanimation cardiaque (1), oncologie périphérique (1), maladie de Fabry (1), gammopathie monoclonale (1), mitochondriopathie (1), fièvre dans un contexte de chimiothérapie (1)</i>)	17	1,9%
absence de pathologie	67	7,6%
trouble fonctionnel	45	5,1%
troubles d'origine psychiatrique/psychologique	22	2,5%

SIT: "possible"	199	22,7%
pathologies vasculaires cérébrales	51	5,8%
AVC ou antécédent d'AVC	43	4,9%
autres	8	0,9%
maladies inflammatoires systémiques sans atteinte neurologique	29	3,3%
Gougerot Sjogren	8	0,9%
sarcoidose	7	0,8%
lupus	7	0,8%
Horton	2	0,2%
autres (<i>Behcet (1), Wegener (1), Cogan (1), périartérite noueuse (1), connectivite inclassée (1)</i>)	7	0,8%
maladies infectieuses sans atteinte neurologique mais pouvant l'entraîner (lyme (4), syphilis (2), VZV (1), EBV (1)) ou antécédent d'atteinte neurologique d'origine infectieuse (9)	17	1,9%
pathologies ophtalmologiques inflammatoires pouvant atteindre le SNC (uvéite (4), (Tolosa Hunt (2), papillite isolée (1))	7	0,8%
pathologies neurologiques diverses dont l'absence ou la présence d'une synthèse intrathécale est discutée ou rarement décrite	47	5,1%
Guillain Barré	8	0,9%
Syndrome Miller-Fisher	4	0,5%
polyradiculoneuropathie chronique	12	1,4%
ataxie sans précision	2	0,2%
Creutzfeld Jacob	3	0,3%
métastase cérébrale	5	0,6%
Parsonage Turner	3	0,3%
paralysie faciale a frigore	7	0,8%
spondylarthrite ankylosante	3	0,3%
pathologies neurologiques d'étiologie inconnue	46	5,3%
"neuropathie" non précisée	32	3,7%
pléioctyose du LCR	4	0,5%
VI idiopathique	4	0,5%
névralgie	4	0,5%
autres (<i>paralysie faciale (1), diplégie faciale (1)</i>)	2	0,2%
lymphome	2	0,2%
SIT: "oui"	277	31,6%
maladies neurologiques inflammatoires	186	21,2%
sclérose en plaques	108	12,3%
myélite isolée	23	2,6%
NORB isolée	26	3,0%
syndrome cliniquement isolé, IRM+	10	1,1%
NMO	9	1,0%
ADEM ou antécédents	7	0,8%
syndrome radiologiquement isolé	2	0,2%
maladie inflammatoire du tronc cérébral	1	0,1%

maladies inflammatoires systémiques avec atteinte neurologique	14	1,6%
neurosarcoidose	7	0,8%
neuro-Behcet	3	0,3%
Churg strauss avec atteinte neurologique	2	0,2%
autres (<i>angéite primitive du système nerveux central (1), Wegener avec atteinte neurologique (1)</i>)	2	0,2%
atteintes neurologiques d'origine infectieuse	48	5,5%
virales (<i>entérovirus (1), HSV (1), HEV (1), VZV (2), HIV (6)</i>)	11	1,3%
bactériennes (<i>neurolyme (4), neurosyphilis (1), méningite pneumocoque (1), méningoencéphalite fièvre Q (2), méningoencéphalite mycoplasme (1)</i>)	9	1,0%
parasitaires (<i>toxoplasmose cérébrale (1)</i>)	1	0,1%
méningite lymphocytaire sans étiologie démontrée	27	3,1%
syndromes neurologiques paranéoplasiques (<i>Denny Brown (2), syndrome cérébelleux paranéoplasique (1), encéphalite paranéoplasique (1)</i>)	4	0,5%
lymphome cérébral	5	0,6%
tumeurs cérébrales	8	0,9%
méningite carcinomateuse	6	0,7%
pathologies neurologiques diverses (<i>pachyméningite (2), méningite myélomateuse (1), encéphalite limbique dysimmune (1), autres encéphalites (2)</i>)	6	0,7%
diagnostic non connu	118	13,5%
TOTAL	876	100,0%

La *Figure 13* représente de façon schématique les différents groupes de patients, au sein de la cohorte totale, que nous avons utilisés dans notre étude.

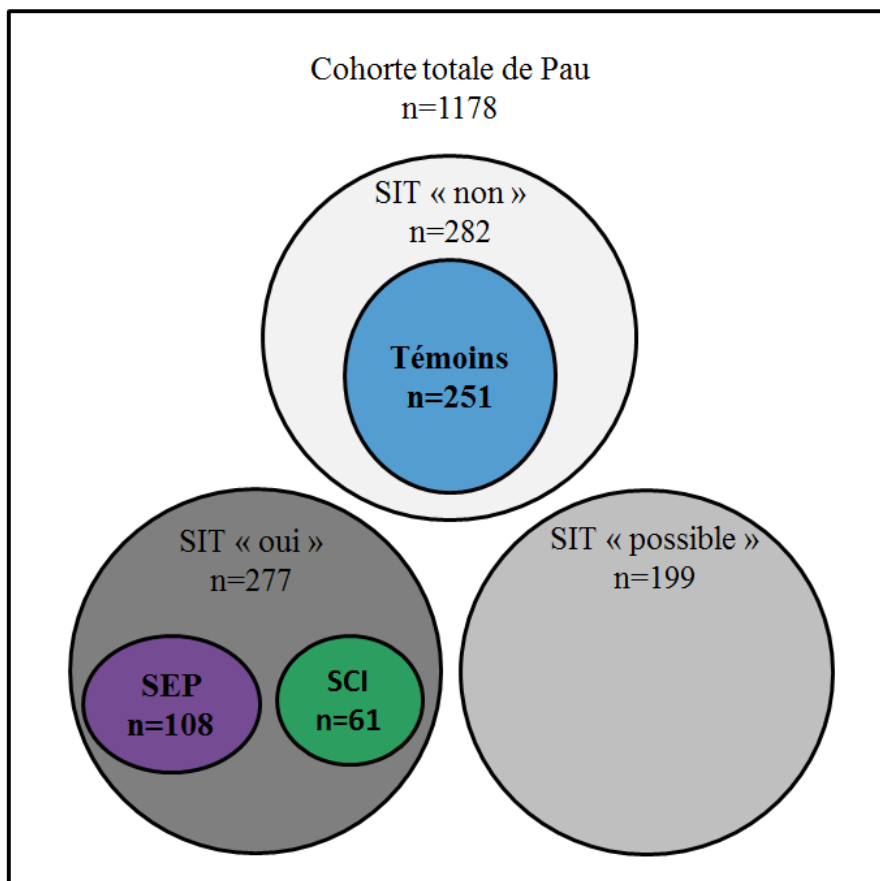


Figure 13 – *Groupes de patients utilisés dans notre étude*

3.2. Comparaison des données locales et des normes de Reiber

3.2.1. Description de la population témoin

Parmi les 282 dossiers de patients identifiés comme présentant une pathologie clinique sans synthèse intrathécale théorique connue, 31 ont été secondairement exclus en raison d'une incongruence biologique (voir *Tableau 13*).

Tableau 13 - *Sélection des témoins*

Nombre de dossiers sans SIT connue	282
Nombre de dossiers exclus pour présence de BOC	23
Nombre de dossiers exclus pour index IgG $\geq 0,70$	3
Nombre de dossiers exclus pour leucocytes LCR $> 5/\text{mm}^3$	5
Nombre final de dossiers témoins	251

Nous avons donc inclus 251 patients témoins indemnes de SIT, répartis dans les trois intervalles de Qalb : 99 sujets dans l'intervalle Qalb [0-4,2], 61 sujets dans l'intervalle Qalb [5,5-6,9], et 91 sujets dans l'intervalle Qalb [7,7-10]. L'âge moyen est de 56 ans, et 57,5% sont des femmes.

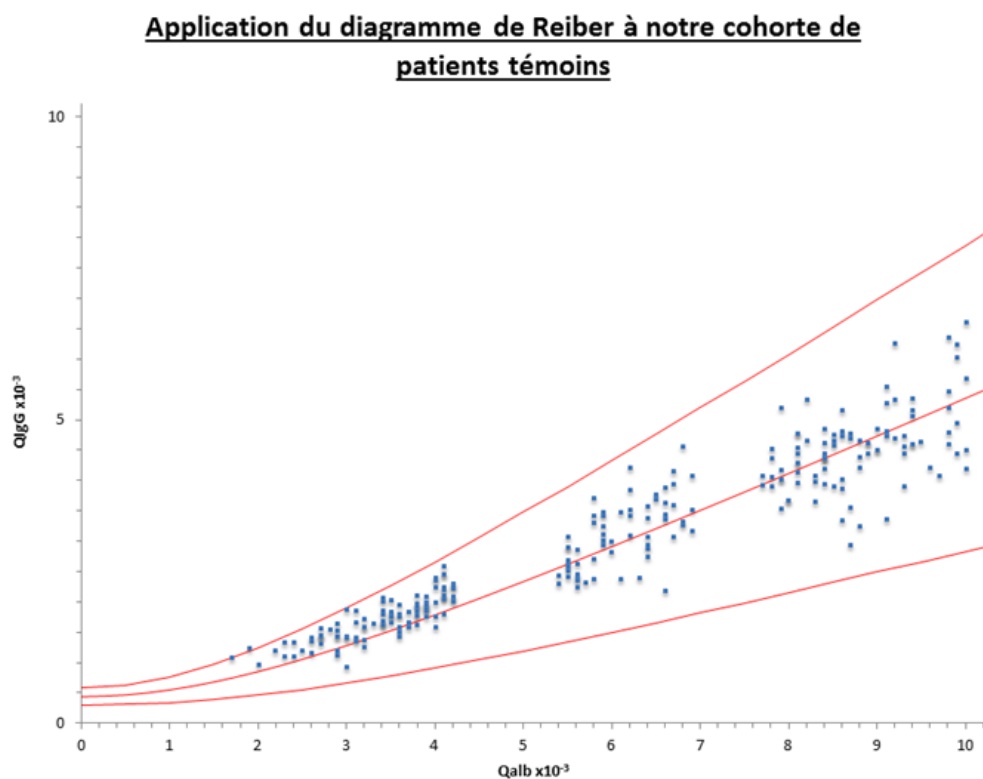
Les témoins présentent des pathologies variées, neurologiques ou non (détaillées dans le *Tableau 14*) : les plus fréquentes sont des pathologies neuro-dégénératives, des troubles fonctionnels et des migraines ou céphalées.

Tableau 14 - Pathologies des patients inclus et exclus des témoins

Pathologie	SIT « non »	PATIENTS INCLUS DANS LES TEMOINS		PATIENTS EXCLUS DES TEMOINS	
	Nombre total de patients	Nombre de patients	% des témoins	Nombre de patients	Incongruence biologique à l'origine de l'exclusion
Pathologie neuro- dégénérative	65	58	23,1%	4 1 1 1	1 BOC 3 BOC >10 BOC 16 leucocytes/mm ³
Trouble fonctionnel	45	41	16,3%	1 1 1 1	2 BOC 5 BOC Index IgG = 0,72 6 leucocytes/mm ³
Migraines/céphalées	34	30	12,0%	2 1 1	1 BOC Index IgG = 0,74 6 leucocytes/ mm ³
Epilepsie	27	27	10,8%	0	
Trouble d'origine psychiatrique/ psychologique	22	20	8,0%	2	1 BOC
Pathologie neurologique autre	19	16	6,4%	1 1 1	1 BOC 2 BOC 7 leucocytes/ mm ³
Trouble d'origine mécanique	17	17	6,8%	0	
Pathologie non neurologique autre	17	13	5,2%	3 1	1 BOC 2 BOC
Neuropathie	14	11	4,4%	1 2	1 BOC >10 BOC
Troubles d'origine ophtalmologique	10	7	2,8%	1 1 1	1 BOC Index IgG = 0,71 7 leucocytes/ mm ³
Vertiges	6	6	2,4%	0	
Troubles d'origine musculaire	6	5	2,0%	1	2 BOC
Total	282	251	100%	31	

3.2.2. Comparaison avec les normes de Reiber

Nous avons placé les témoins sur le diagramme de Reiber (voir *Figure 14*).



Qalb	[0-4,2]	[5,5-6,9]	[7,7-10]	TOTAL
Nb sujets	99	61	91	251
Nb > Qmean (%)	87 (87,9%)	36 (57,1%)	44 (48,4%)	167 (66,0%)
Écart centré réduit	p<0,0001	p=0,0180	p=0,4685	p<0,0001

Figure 14 – Application du diagramme de Reiber à notre cohorte de patients témoins

Contrairement à notre attente, nous constatons que les témoins ne sont pas répartis uniformément autour de la courbe moyenne. En effet, les points sont globalement situés au-dessus de Qmean ($p<0,0001$). Cette anomalie est particulièrement marquée dans l'intervalle Qalb [0-4,2] avec 87,9% des points situés au-dessus de Qmean, puis s'atténue avec les Qalb croissants jusqu'à se normaliser dans le dernier intervalle où les points sont répartis de part et d'autre de Qmean.

Afin d'augmenter le nombre de points, de nous affranchir des intervalles de Qalb et voir si cette anomalie persiste, nous décidons d'appliquer à notre cohorte les mêmes critères que Reiber a utilisé pour sélectionner ses patients sans SIT (63). Ces critères, uniquement biologiques, sont les suivants :

- Absence de BOC IgG dans le LCR ;
- Cellules $< 4 /\text{mm}^3$ pour un Qalb $< 8 \times 10^{-3}$.

Nous n'avons pu appliquer le critère « absence de synthèse locale d'IgA et IgM selon les diagrammes établis » faute de dosage des IgA et IgM dans le LCR au laboratoire.

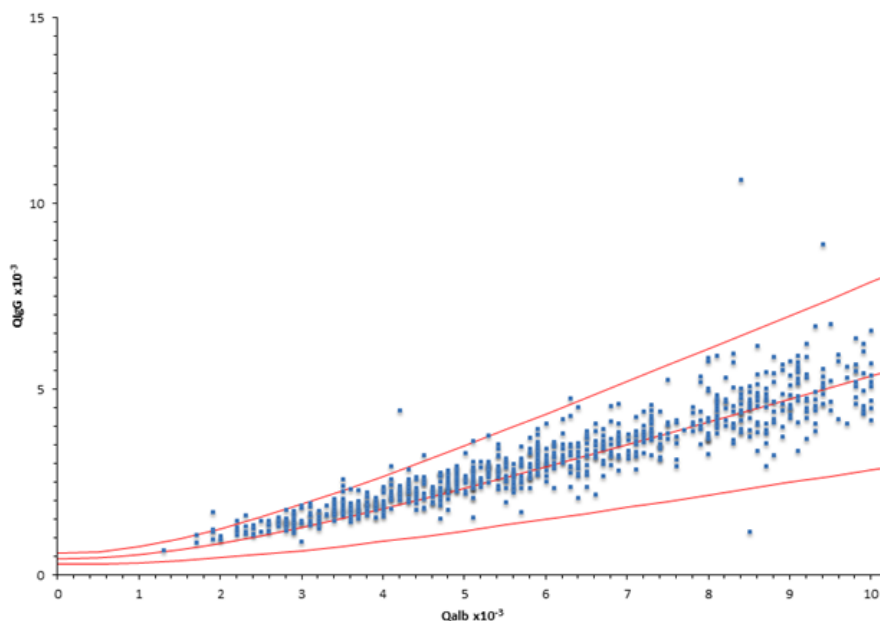
Parmi les 1178 dossiers constituant notre cohorte, 377 ont été exclus en appliquant les critères de sélection de Reiber (voir *Tableau 15*).

Tableau 15 – *Tri biologique des patients témoins*

Nombre de dossiers constituant la cohorte	1178
Nombre de dossiers exclus pour présence de BOC	239
Nombre de dossiers exclus pour leucocytes LCR $\geq 4/\text{mm}^3$ pour Qalb $< 8 \times 10^{-3}$	138
Nombre final de dossiers témoins	801

Nous avons placé les témoins sur le diagramme de Reiber (voir *Figure 15*). Nous avons étudié la répartition des points dans les mêmes intervalles que ceux utilisés précédemment afin de pouvoir comparer.

**Application du diagramme de Reiber à la cohorte de Pau triée
biologiquement**



Qalb	[0-4,2]		[5,5-6,9]		[7,7-10]	TOTAL
Nb sujets	192		172		217	801
Nb > Qmean (%)	175 (91,1%)		109 (63,4%)		120 (55,3%)	568 (70,9%)
Écart centré réduit	p<0,0001		p<0,0001		p=0,0266	p<0,0001

Figure 15 – Application du diagramme de Reiber à notre cohorte de patients témoins triés biologiquement

Nous constatons que les patients triés selon les critères de Reiber ne sont pas non plus répartis uniformément autour de la courbe moyenne. Les QIGG sont déviés au-dessus de la moyenne ($p < 0,0001$). Comme observé précédemment, l'anomalie est particulièrement marquée dans l'intervalle Qalb [0-4,2] avec 91,1% des points situés au-dessus de Qmean, puis s'atténue avec les Qalb croissants mais sans se normaliser ici dans le dernier intervalle.

Face à cette constatation inattendue, **nous formulons l'hypothèse que notre population témoin dépourvue de SIT théorique est différente de celle de Reiber et/ou que ses normes ne sont pas adaptées.** Nous décidons de proposer nos propres normes.

3.2.3. Application des normes de Reiber à une autre cohorte

Pour confirmer la réalité de cette différence observée dans notre cohorte, nous avons souhaité appliquer les normes de Reiber à une autre cohorte recrutée sur un autre centre hospitalier (CH de Bayonne). Nous avons demandé aux biologistes du laboratoire du CH de Bayonne de nous fournir une liste de données brutes anonymisées d'examens de ponction lombaire. Ils ont réalisé une extraction sur leur système d'information du laboratoire de tous leurs dosages d'IgG et d'albumine sur les couples LCR/sérum sur la période 1er Janvier 2012 – 19 Mai 2015. Les dosages d'IgG et d'albumine sont réalisés par néphélométrie sur automate Siemens BN Prospec. Nous obtenons finalement 522 dossiers ($Q_{alb} \leq 10 \times 10^{-3}$).

Ne disposant pas des résultats bruts des dosages d'IgG sériques, nous avons calculé Q_{IgG} par le même calcul que pour notre cohorte ($Q_{IgG} = Q_{alb} \times \text{index IgG}$). Les renseignements cliniques des patients de la cohorte de Bayonne n'étaient pas connus. Cependant, nous pouvons, en première approximation, supposer des pratiques médicales et un recrutement très proches de ceux de notre centre. Nous supposons donc que les proportions de sujets indemnes ou porteurs de SIT soient similaires aux nôtres (environ 17%).

Nous avons placé les points sur le diagramme de Reiber (voir *Figure 16* pour la cohorte de Pau, *Figure 17* pour la cohorte de Bayonne). Nous avons comparé la répartition des patients dans chaque cohorte par rapport à Q_{mean} , et entre les deux cohortes. Les résultats sont regroupés dans le *Tableau 16*. Nous formulons l'hypothèse qu'une sous-représentation des points $Q_{IgG} < Q_{mean}$ dans cette cohorte bayonnaise confirmerait nos résultats et serait en faveur d'un biais systématique indépendant de notre centre.

Application du diagramme de Reiber à la cohorte de Pau

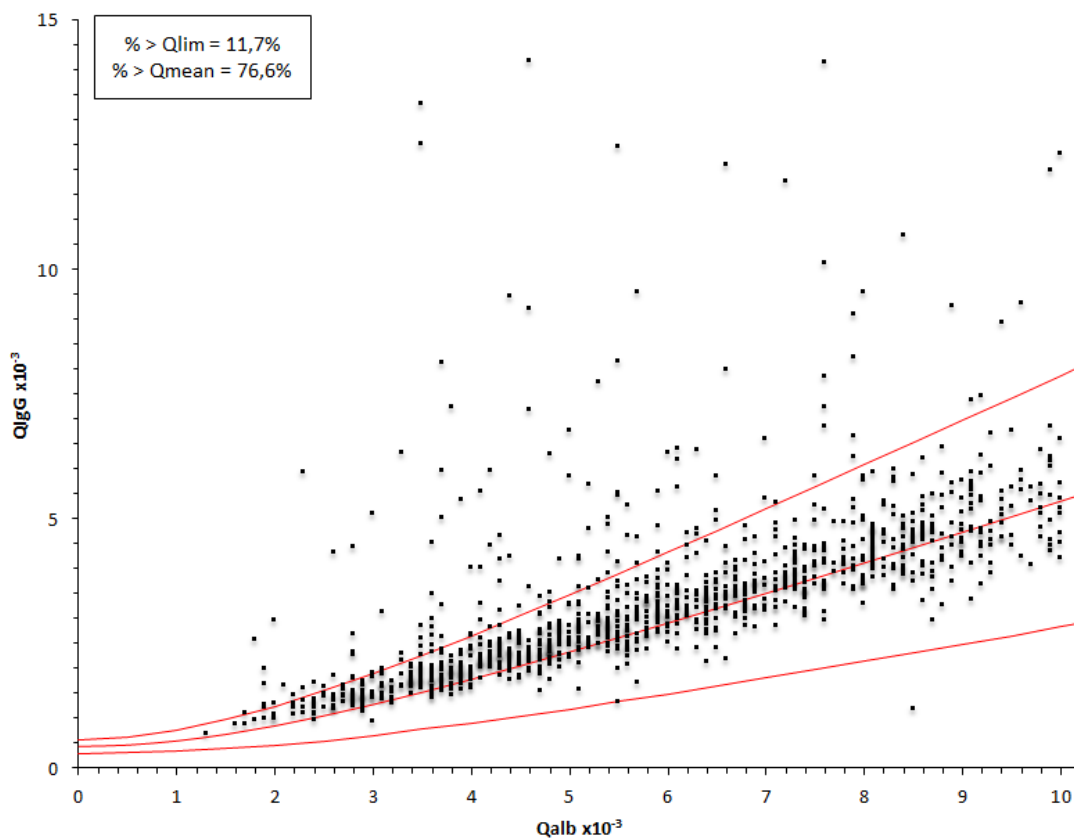


Figure 16 – Application du diagramme de Reiber à la cohorte de Pau

Application du diagramme de Reiber à la cohorte de Bayonne

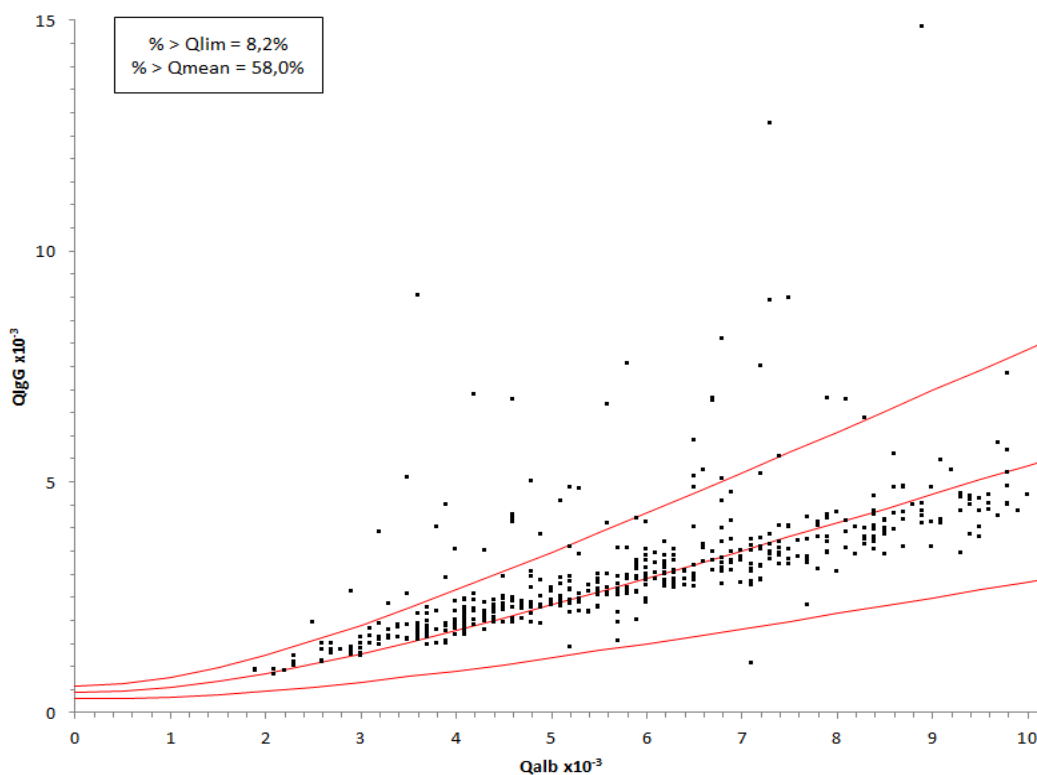


Figure 17 – Application du diagramme de Reiber à la cohorte de Bayonne

Tableau 16 – Comparaison de la répartition des patients de Pau et Bayonne sur le diagramme de Reiber

Intervalle de Qalb	Répartition des patients		
	Pau versus moyenne	Bayonne versus moyenne	Pau versus Bayonne
[0-4[n>Qmean = 223 (91,2%) p<0,0001	n>Qmean = 89 (89,9%) p=0,0005	p=0,3162
[4-6[n>Qmean = 331(82,1%) p<0,0001	n>Qmean = 135 (71,1%) p<0,0001	p=0,0018
[6-8[n>Qmean = 207 (70,4%) p<0,0001	n>Qmean = 61 (40,1%) p=0,0274	p=0,0108
[8-10]	n>Qmean = 141 (59,2%) p<0,0001	n>Qmean = 16(19,7%) p=0,2557	p<0,0001
TOTAL	n>Qmean = 902 (76,6%) p<0,0001	n>Qmean = 301 (57,7%) p<0,0001	p=0,0001

Nous observons un pourcentage comparable de patients > Qlim dans les cohortes de Pau (11,7%) et Bayonne (8,2%), témoignant d'une proportion comparable de patients pathologiques.

Nous observons effectivement une quasi absence de points QIgG < Qmean pour des Qalb < 4×10^{-3} dans la cohorte de Bayonne comme dans celle de Pau. Les patients de Pau sont majoritairement situés au-dessus de Qmean, quelque soit le Qalb. Les patients de Bayonne sont répartis au-dessus de Qmean lorsque le Qalb est < 6×10^{-3} , puis en-dessous. Finalement, la moyenne des QIgG des patients de Pau diffère de celle des patients de Bayonne, sauf pour des Qalb < 4×10^{-3} .

Ces résultats sont en faveur de notre hypothèse d'un biais systématique du couple (Qalb, QIgG) comparativement avec les normes de Reiber. Contrairement à notre attente, ce biais diffère d'un centre à l'autre.

3.3. Adaptation à notre population : normes laboratoires

Nous souhaitons donc proposer nos propres normes locales adaptées à notre population, afin de disposer d'un outil diagnostique de SIT plus performant. Pour cela, nous déterminons à l'aide du logiciel Microsoft Excel la courbe moyenne de l'ensemble de nos points témoins. La courbe la mieux corrélée à nos points présente l'équation suivante :

$$QIGG = 0,4974 \times Qalb^{1,0123} \quad (R^2=0,9229).$$

Nous construisons ensuite les courbes inférieures et supérieures de façon à inclure 99% des points, de la même façon que Reiber (63). Comme le montre la *Figure 18*, 3 points sur les 251 sont à l'extérieur, en-dessous de la limite inférieure d'où 98,8% des points témoins à l'intérieur de nos normes. Les témoins sont répartis de façon homogène autour de notre courbe moyenne ($p=0,3140$ pour l'ensemble des témoins, $p=0,5551$ pour Qalb [0-4,2], $p=0,9501$ pour Qalb [5,5-6,9], et $p=0,2967$ pour Qalb [7,7-10]).

Notre fonction n'est pas hyperbolique comme celle de Reiber. La *Figure 18* compare les positions de nos courbes laboratoires à celles de Reiber.

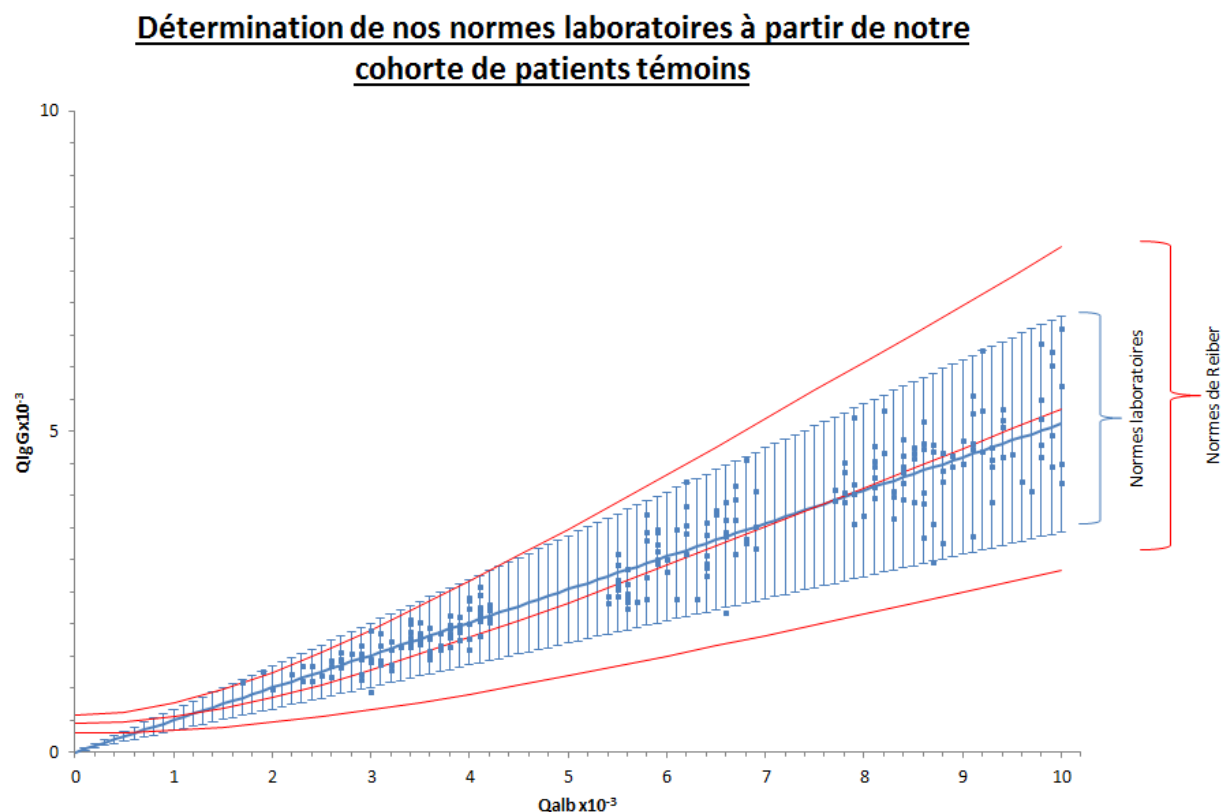


Figure 18 – Détermination de nos normes laboratoires à partir de notre cohorte de patients témoins

3.4. Application du diagramme de Reiber aux patients atteints de SEP et de SCI

3.4.1. Description des patients SEP et SCI

Les renseignements cliniques fournis par le clinicien nous ont permis d'identifier 108 dossiers de patients atteints de SEP parmi les 1178 constituants notre cohorte. La moyenne d'âge est de 41 ans (minimum 12 ans, maximum 77 ans). Le sexe féminin représente 71,3% des patients. Nous retrouvons un profil cyto-immunologique du LCR des patients SEP comparable à celui décrit dans la littérature. La réaction cellulaire dans le LCR est modérée. La protéinorachie moyenne et le Qalb moyen sont normaux, témoignant de l'intégrité des échanges au niveau de la barrière sang-LCR. La synthèse intrathécale d'IgG est mise en évidence par une augmentation de l'index IgG chez 81 patients (sensibilité 75%), en moyenne à 1,11 et/ou par la présence de bandes oligoclonales d'IgG spécifiques au LCR par focalisation isoélectrique chez 90 patients (sensibilité 83,3%).

Le groupe des patients SCI est formé de 61 patients ayant présenté un syndrome cliniquement isolé susceptible de convertir en SEP : NORB (26), myélites (23), autres troubles comportant des anomalies inflammatoires à l'IRM (12). La moyenne d'âge est de 42 ans (minimum 1 an, maximum 78 ans). Le sexe féminin représente 62,3% des patients. Le nombre moyen de leucocytes dans le LCR, la protéinorachie moyenne et le Qalb moyen sont sensiblement identiques à ceux des patients SEP. La différence réside dans la mise en évidence d'une SIT, beaucoup moins fréquente. L'index IgG est augmenté chez 5 patients (sensibilité 8,2%). Des BOC sont présentes chez 10 patients (sensibilité 16,4%). Le *Tableau 17* détaille les caractéristiques du LCR des patients SEP et SCI.

Tableau 17 – Caractéristiques du LCR des patients SEP et SCI

	SEP	SCI
Leucocytes	Moyenne = 7/ mm ³ Min = 0/mm ³ Max = 65/mm ³ Nb ≥ 5 /mm ³ = 50 (46,3%)	Moyenne = 7/mm ³ Min = 0/mm ³ Max = 82/mm ³ Nb ≥ 5 /mm ³ = 16 (22,2%)
Protéïnorachie	Moyenne = 0,38g/l Min = 0,16 g/l Max = 0,73 g/l Nb > 0,40g/l = 41 (38,0%)	Moyenne = 0,37g/l Min = 0,16 g/l Max = 0,69 g/l Nb > 0,40g/l = 24 (39,3%)
Qalb	Moyenne = 5,4 x10 ⁻³	Moyenne = 5,7 x10 ⁻³
Index IgG	Moyenne = 1,11 Min = 0,40 Max = 3,80 Nb ≥ 0,70 = 81 (75%)	Moyenne = 0,57 Min = 0,33 Max = 1,48 Nb ≥ 0,70 = 5 (8,2%)
IEF		
• 0 BOC	9 patients (8,3%)	41 patients (67,2%)
• 1 BOC	5 patients (4,6%)	8 patients (13,1%)
• Profil périphérique	4 patients (3,8%)	2 patients (3,3%)
• ≥ 2 BOC	90 patients (83,3%)	10 patients (16,4%)

3.4.2. Etude des performances

Nous avons appliqué les normes de Reiber, ainsi que nos normes laboratoires, aux patients porteurs de SEP et aux patients du groupe contrôle « SIT non », dépourvus de SIT théorique. Nous avons étudié leurs performances diagnostiques et comparé ces performances à celles des techniques utilisées au laboratoire (index IgG et focalisation isoélectrique).

Dans le groupe des 108 patients SEP, le QIgG est élevé (> Qlim) chez 83 patients avec les normes de Reiber, chez 85 patients avec les normes laboratoires. Dans le groupe des 282 patients du groupe contrôle, le QIgG est élevé chez 6 patients avec les normes de Reiber, chez 8 patients avec les normes laboratoires. Les résultats sont présentés dans le *Tableau 18*.

Tableau 18 – Performances diagnostiques

	Techniques quantitatives			IEF
	Index IgG	Reiber	Labo	
Se	75%	76,8%	78,7%	83,3%
Sp	97,9%	97,9%	97,2%	96,8%
VPP	93,1%	93,2%	91,4%	90,9%
VPN	91,1%	91,7%	92,2%	93,8%

La sensibilité des normes de Reiber et des normes laboratoires est meilleure que celle de l'index IgG mais reste inférieure à celle de la recherche de BOC par IEF. Leur utilisation ne peut donc se substituer à la recherche des BOC. L'utilisation des normes laboratoires ne modifie pas substantiellement les Se et Sp comparativement aux normes de Reiber.

Nous avons étudié la capacité de ces techniques à prédire les BOC, en comparaison à l'index IgG. La *Figure 19* présente le diagramme de Reiber et les normes laboratoires appliqués aux patients SEP et SCI (distingués selon la présence ou non de BOC).

Nous avons confronté la détection d'une SIT par l'index IgG, Reiber ou les normes laboratoires à la présence de BOC. Nous avons alors considéré l'ensemble des patients SEP et SCI soit 169 patients. Le *Tableau 19* détaille les résultats de la recherche des BOC, de l'index IgG, des normes de Reiber et des normes laboratoires. Parmi ces 169 patients, l'existence d'une SIT a été établie sur la base de la recherche des BOC chez 100 patients (59,2%). Chez ces 100 patients, 79 présentent un index IgG élevé, 81 présentent un QIgG élevé selon Reiber, et 82 selon les normes laboratoires. Parmi les 69 chez lesquels la recherche de BOC est négative, 7 patients présentent un index IgG élevé, 7 patients présentent un QIgG élevé selon Reiber et 9 selon les normes laboratoires. Le *Tableau 20* reprend la sensibilité, spécificité, VPP et VPN de l'index IgG, des normes de Reiber et des normes laboratoires en prenant comme référence le résultat de la recherche des BOC par IEF.

Application du diagramme de Reiber et des normes laboratoires aux patients SEP et SCI

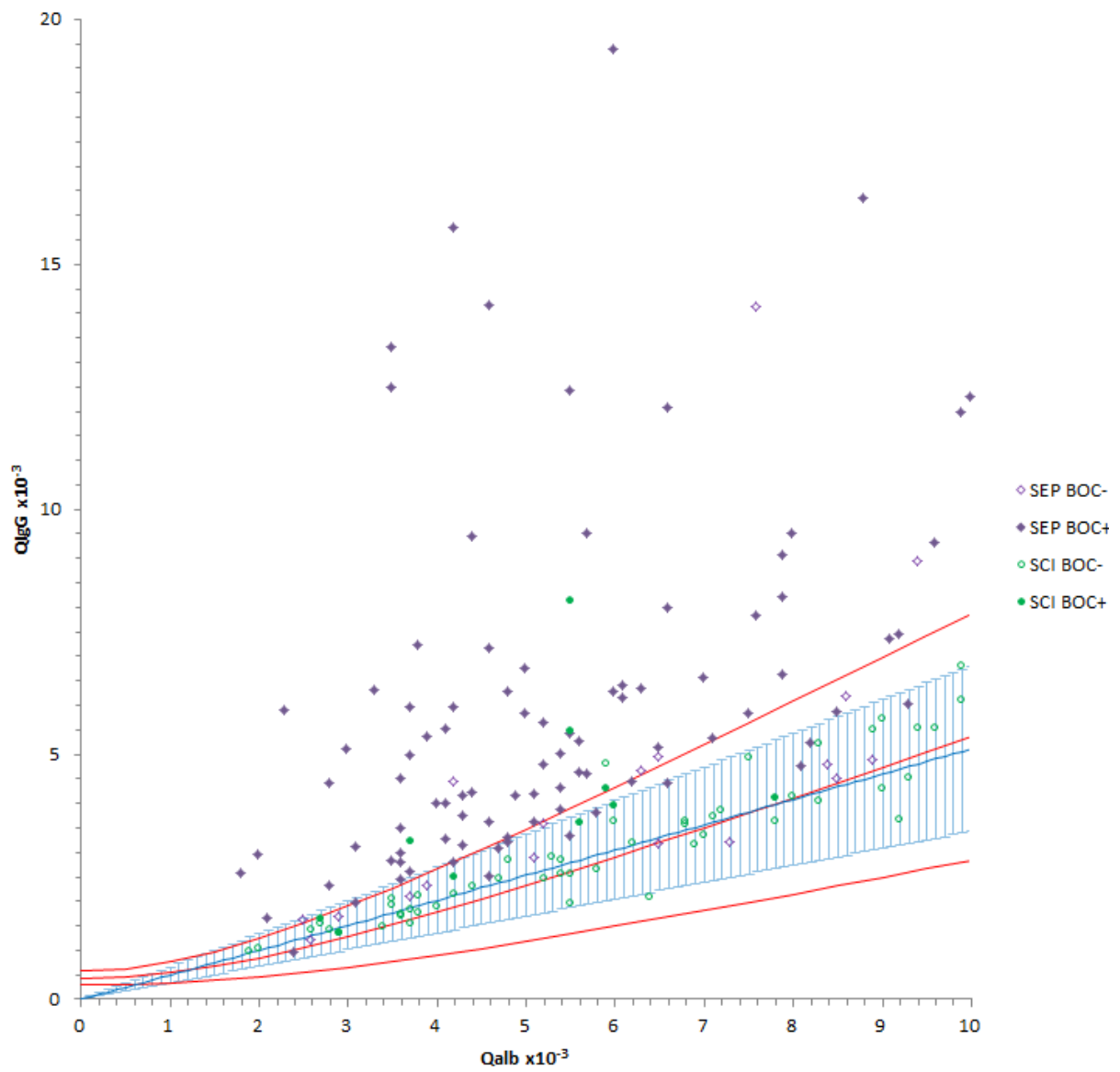


Figure 19 – Application du diagramme de Reiber et des normes laboratoires aux patients SEP et SCI

Tableau 19 - Résultats de la recherche des BOC, de l'index IgG, des normes de Reiber et des normes laboratoires des patients SEP et SCI

BOC	Index IgG	Reiber	Labo	Nb patients SEP (%)	Nb patients SCI (%)	Total
+	+	+	+	74 (68,5%)	4 (6,6%)	78
		+	-	0	0	0
		-	+	1 (0,9%)	0	1
		-	-	0	0	0
	-	+	+	2 (1,9%)	0	2
		+	-	1 (0,9%)	0	1
		-	+	1 (0,9%)	0	1
		-	-	11 (10,2%)	6 (9,8%)	17
-	+	+	+	5 (4,8%)	1 (1,6%)	6
		+	-	0	0	0
		-	+	1 (0,9%)	0	1
		-	-	0	0	0
	-	+	+	0	0	0
		+	-	1 (0,9%)	0	1
		-	+	1 (0,9%)	1 (1,6%)	2
		-	-	10 (9,2%)	49 (80,4%)	59
			Total	108	61	169

Tableau 20 – Performances des différentes techniques quantitatives dans la prédiction des BOC

	Index IgG	Reiber	Laboratoire
Se	79%	81%	82%
Sp	89,8%	89,8%	86,9%
VPP	91,9%	92%	90,1%
VPN	74,7%	76,5%	76,9%

La capacité à prédire la présence de BOC par les normes de Reiber ou les normes laboratoires est très faiblement améliorée par rapport à l'index IgG (sensibilité de 81% pour Reiber et 82% pour les normes laboratoires, contre 79% pour l'index IgG). La mise en place des normes de Reiber ou des normes laboratoires n'aurait donc que peu d'impact sur la prédiction des BOC en l'attente des résultats d'IEF.

Nous nous sommes intéressés aux 3 patients dont la SIT est uniquement détectée par l'une des deux normes.

- Cas clinique 1 : Mme K.C., 38 ans, a présenté pour la première fois des troubles sphinctériens en mai 2011. Elle est hospitalisée 3 semaines après le début des troubles. L'IRM montrait une lésion T2 médullaire prenant le contraste. La ponction lombaire retrouvait 25 leucocytes/mm³, une protéinorachie et un Qalb normaux, un index IgG à 0,69 et une absence de BOC. La *Figure 20* présente le diagramme de Reiber et les normes laboratoires appliqués à la patiente. Une SIT est détectée par les normes laboratoires (la patiente se situe très près de la courbe Qlim des diagrammes). Mme K.C. a présenté une nouvelle poussée en mars 2012, permettant de poser le diagnostic de SEP-RR.

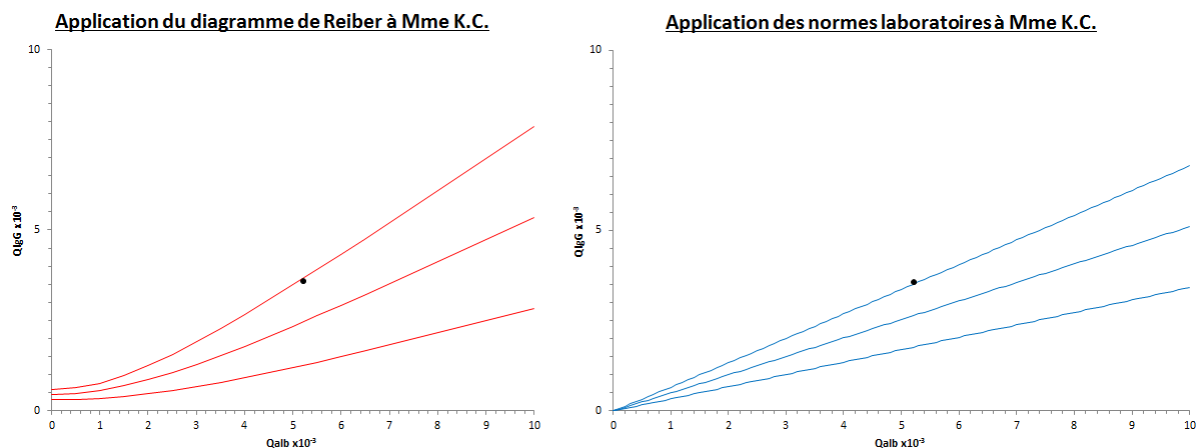


Figure 20 – Cas clinique 1 : Mme K.C.

- Cas clinique 2 : Mme M.M., 29 ans, a présenté des troubles sensitifs des membres inférieurs en janvier 2014 (un épisode identique était survenu un an auparavant). Lors de son hospitalisation en avril 2014, un syndrome de Gougerot Sjögren est diagnostiqué. La patiente a présenté de nouveau ces troubles pendant l'été 2014. Elle est hospitalisée en septembre 2014. L'IRM montrait alors 5 lésions médullaires ne prenant pas le contraste. La ponction lombaire retrouvait 4 leucocytes/mm³, une

protéinorachie et un Qalb normaux, un index IgG à 0,65 et une absence de BOC. La *Figure 21* présente le diagramme de Reiber et les normes laboratoires appliqués à la patiente. Une SIT est détectée par le diagramme de Reiber (la patiente se situe très près de la courbe Qlim des diagrammes). Le suivi IRM, un an plus tard, a permis de poser le diagnostic de SEP-RR.

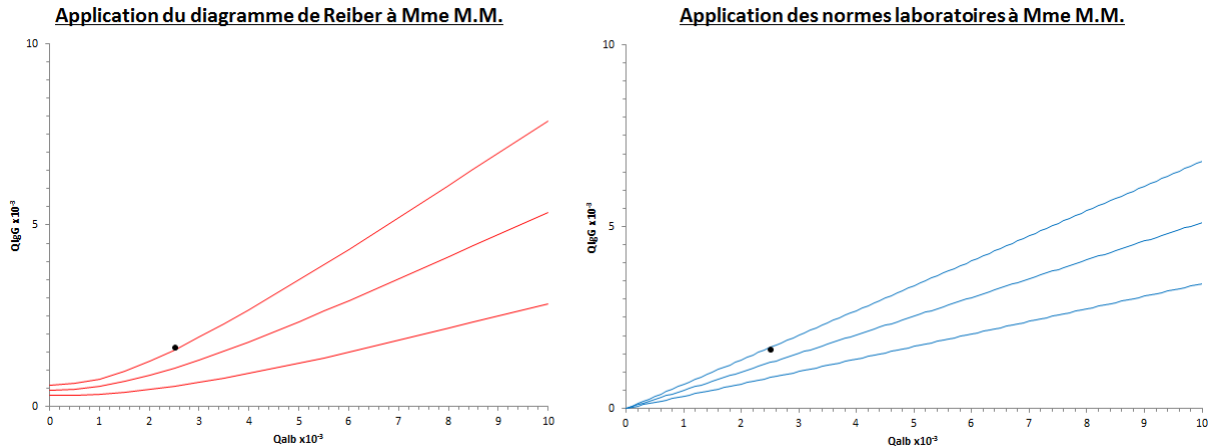


Figure 21 – *Cas clinique 2 : Mme M.M.*

- Cas clinique 3 : Mme N.R., 45 ans, a été hospitalisée en octobre 2011 pour exploration d'une myélite apparue 6 semaines auparavant. L'IRM montrait une lésion T2 médullaire prenant le contraste. La ponction lombaire retrouvait 47 leucocytes/mm³, une protéinorachie et un Qalb augmentés, un index IgG à 0,69 et une BOC. La *Figure 22* présente le diagramme de Reiber et les normes laboratoires appliqués à la patiente. Une SIT est détectée par les normes laboratoires. Le devenir de Mme N.R est inconnu.

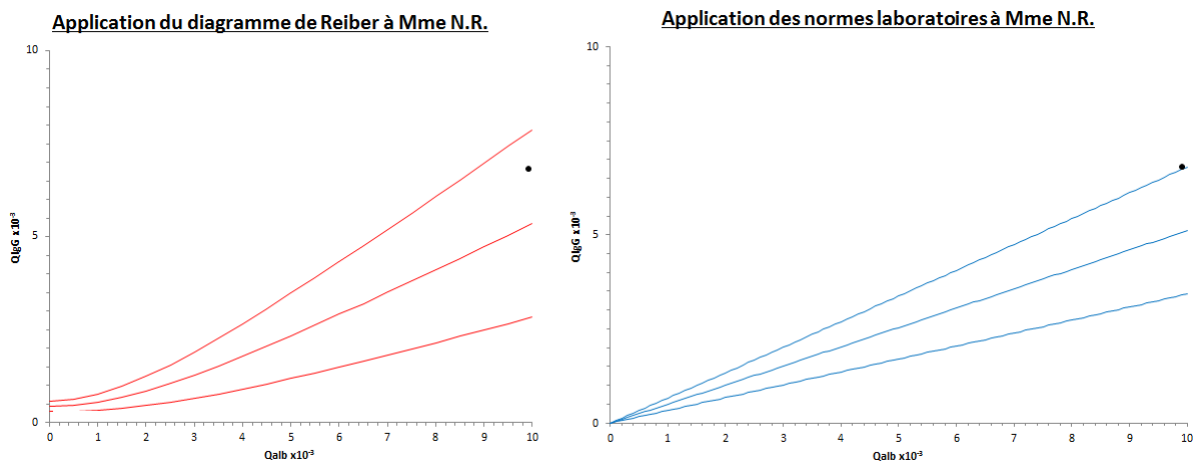


Figure 22 – *Cas clinique 3 : Mme N.R.*

Au total, les normes de Reiber permettent de mettre en évidence une SIT non détectée par les techniques usuelles pour un seul patient (0,6% des patients SEP et SCI). L'application des normes laboratoires permet de mettre en évidence une SIT non détectée par les techniques usuelles pour deux patients (1,2% des patients SEP et SCI). Leur utilisation n'aurait également que peu d'impact sur la conclusion finale (SIT oui/non).

Les normes laboratoires sont discordantes avec celles de Reiber chez 4 patients SEP : 1 patient présentant des BOC et un index IgG élevé, 2 patients présentant des BOC et un index IgG normal, et 1 patient sans BOC avec un index IgG élevé. Bien que nos normes laboratoires soient plus adaptées à notre population que celles de Reiber, le nombre de patients dont la conclusion diffère selon que l'on applique nos normes ou celles de Reiber est faible.

3.4.3. Etude des synthèses intrathécales infraliminaires

Nous formulons l'hypothèse qu'une SIT à bas bruit (non détectée) dans la population SEP/SCI se traduirait par un biais de répartition des QIgG au-dessus de la moyenne.

Nous avons placé sur le diagramme de Reiber et sur nos normes laboratoires (voir *Figure 23*) les patients SEP et SCI à ponction lombaire normale (BOC- et index IgG < 0,70).

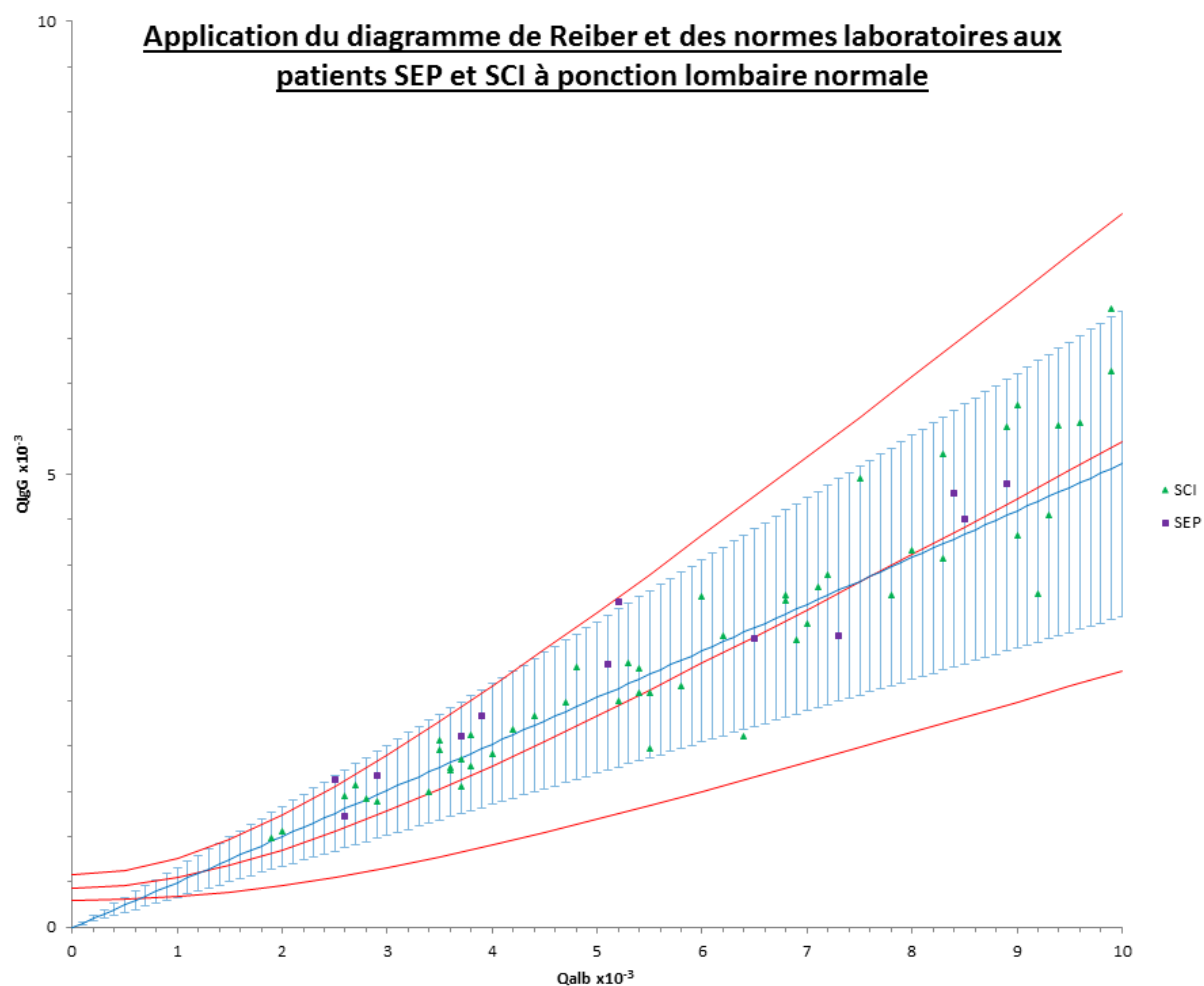


Figure 23 – Application du diagramme de Reiber et des normes laboratoires aux patients SEP et SCI à ponction lombaire normale

Parmi les patients SEP, 12 ont une ponction lombaire normale (11,1%). Sur le diagramme de Reiber, 10 de ces patients se situent au-dessus de Qmean (83,3%). Il existe donc un biais de répartition au-dessus de la moyenne ($p=0,0070$) et le QIgG moyen de ces patients est supérieur à celui des témoins ($p=0,0092$). En appliquant nos normes laboratoires, 9 se situent

au-dessus de la moyenne (75%). Il existe donc également un biais de répartition au-dessus de la moyenne ($p=0,0297$).

Parmi les patients SCI, 50 ont une ponction lombaire normale (82%). Sur le diagramme de Reiber, 38 de ces patients se situent au-dessus de Q_{mean} (76%). Il existe donc un biais de répartition au-dessus de la moyenne ($p<0,0001$) mais le QIgG moyen de ces patients est comparable à celui des témoins ($p=0,3358$). En appliquant nos normes laboratoires, 29 se situent encore au-dessus de la moyenne (58%) mais cette différence n'est pas significative ($p=0,1673$). La *Figure 24* représente la distribution centrée réduite des témoins, patients SEP et SCI par rapport à la moyenne du diagramme de Reiber.

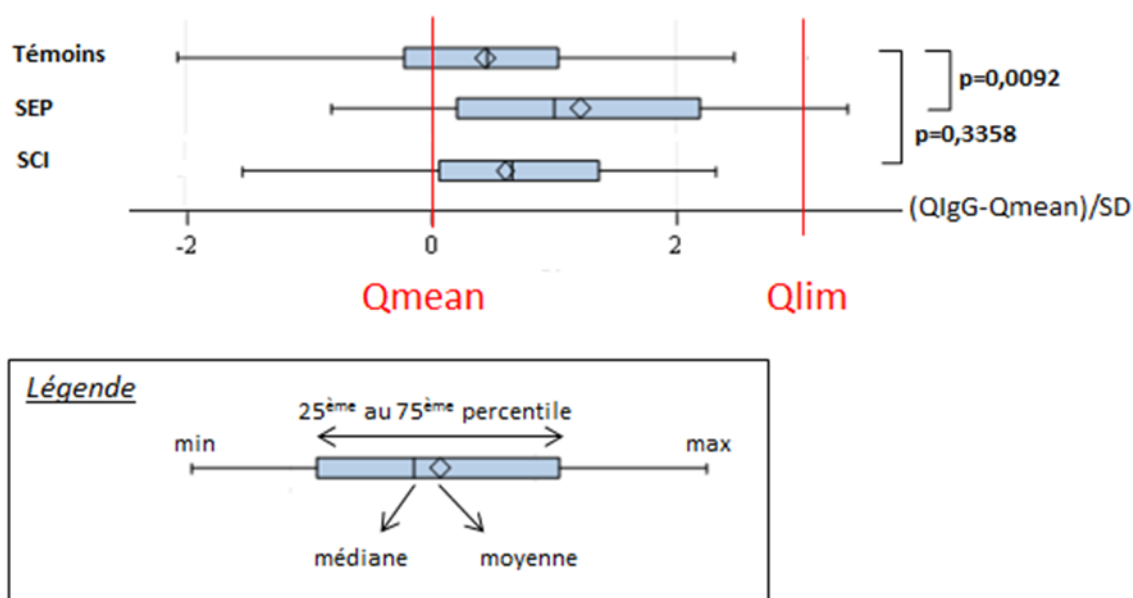


Figure 24 – *Distribution des témoins, patients SEP et SCI par rapport à la moyenne du diagramme de Reiber*

Ces résultats, concordants entre les normes de Reiber et les normes laboratoires, montrent que les patients porteurs d'une SEP, pourtant sans signe de SIT (absence de BOC, index IgG normal), présentent une SIT faible occasionnant un biais systématique. Cette SIT étant trop faible pour être détectée à l'échelle individuelle, les résultats de la ponction lombaire sont alors considérés comme normaux mais les QIgG sont systématiquement biaisés vers le haut. En revanche, les patients SCI sont comparables aux témoins donc ne présentent aucun argument de SIT infraliminaire.

4.1. Comparaison des données locales et des normes de Reiber

A partir des données cliniques et biologiques, nous avons constitué une cohorte de 251 patients témoins indemnes de SIT : c'est-à-dire à la fois porteurs de résultats biologiques normaux (index IgG, IEF) et dénués de pathologies connues pour être associées à une SIT. Placés sur le diagramme de Reiber, ces témoins sont répartis de façon significative au-dessus de la moyenne (Qmean), en particulier pour les Qalb les plus faibles.

Face à cette constatation, nous avons vérifié, dans un premier temps, les valeurs des dosages des taux d'IgG et d'albumine. Aucun arrondi n'est effectué sur le résultat rendu par l'automate.

Nous avons donc ensuite vérifié si notre méthode de calcul du QIgG à partir des données extraites ($QIgG = Qalb \times \text{index IgG}$) induisait un biais systématique par rapport au calcul du QIgG à partir des valeurs brutes ($QIgG = [IgG \text{ LCR}] / [IgG \text{ S}]$). Nous avons pris au hasard 20 dossiers parmi les témoins sélectionnés. Nous sommes allés rechercher pour chacun d'eux les valeurs brutes des dosages d'IgG dans le LCR et le sérum sur le système d'information du laboratoire. Nous avons comparé QIgG brut et QIgG calculé (voir *Tableau 21*). Il n'existe pas de différence significative entre les deux modes de calcul du QIgG ($p=0,845$). De plus, nous pouvons penser que s'il existait un biais dans le calcul, il serait le même sur l'ensemble de l'intervalle. Or la répartition des témoins par rapport à Qmean varie selon le Qalb.

Tableau 21 – Comparaison des deux modes de calcul du QIgG

patient	IgGLCR brut (g/L)	IgGS brut (g/L)	QIgG brut	Qalb extrait	index extrait	QIgG calculé	Différence des QIgG
1	0,012	8,97	1,338	2,7	0,49	1,323	0,015
2	0,014	10,54	1,328	2,4	0,56	1,344	-0,016
3	0,006	6,38	0,940	3	0,31	0,93	0,010
4	0,025	13,51	1,850	3,5	0,53	1,855	-0,005
5	0,021	11,96	1,756	3,9	0,45	1,755	0,001
6	0,016	10,25	1,561	2,9	0,53	1,537	0,024
7	0,019	11,48	1,655	3,4	0,48	1,632	0,023
8	0,014	10,5	1,333	2,3	0,58	1,334	-0,001
9	0,027	18,38	1,469	2,7	0,54	1,458	0,011
10	0,013	9,09	1,430	3,1	0,46	1,426	0,004
11	0,02	11,33	1,765	3,6	0,49	1,764	0,001
12	0,011	7,93	1,387	3,2	0,43	1,376	0,011
13	0,018	11	1,636	3,3	0,5	1,65	-0,014
14	0,014	12,8	1,094	2,4	0,46	1,104	-0,010
15	0,017	10,8	1,574	3,7	0,43	1,591	-0,017
16	0,0116	5,46	2,125	3,8	0,56	2,128	-0,003
17	0,0168	11,5	1,461	2,9	0,5	1,45	0,011
18	0,0165	9,85	1,675	3,4	0,5	1,7	-0,025
19	0,0163	8,41	1,938	3,9	0,5	1,95	-0,012
20	0,0177	9,06	1,954	3,9	0,5	1,95	0,004
moyenne	0,0163	10,46	1,564	3,2	0,49	1,563	0,0006

Nous avons également appliqué les normes de Reiber à une cohorte de CH de Bayonne, supposée similaire à la notre (proportion comparable de sujets pathologiques > Qlim). Nous avons également observé un biais au sein de cette cohorte : identique pour de faibles Qalb puis différent. Bien que la méthode de dosage des IgG et de l'albumine soit différente dans les deux centres, le fait d'utiliser des quotients permet d'obtenir des résultats indépendants de celle-ci. De plus, un biais dû à la méthode de dosage serait constant quelque soit le Qalb.

Nous avons formulé l'hypothèse selon laquelle notre population est différente de celle de Reiber et/ou que ses normes ne sont pas ou plus adaptées. Nous avons déterminé nos normes laboratoires à partir de notre cohorte de témoins. Notre fonction n'est pas de forme hyperbolique comme celle de Reiber, cependant nous n'avons pas poursuivi notre étude sur

des Qalb supérieurs et nous ne pouvons conclure définitivement quant à la forme générale de la courbe à partir de nos données échantillonnant un intervalle restreint.

Malgré la sélection optimale de nos patients témoins (réouverture de tous les dossiers), nous pouvons nous interroger sur une limite éventuelle de cette sélection. En effet, il s'agit de patients hospitalisés et présentant des symptômes neurologiques amenant à la réalisation d'une ponction lombaire. Nous ne pouvons bien sûr exclure que certains aient pu présenter une SIT infime, non connue dans leurs pathologies et ne seraient donc pas de « vrais » témoins.

D'autre part, il nous est impossible d'appliquer exactement les mêmes critères de sélection que Reiber, soit parce qu'ils manquent de précision (« absence de contamination sanguine »), soit parce qu'il nous manque des données (dosage des IgA et IgM dans le LCR).

La taille de notre cohorte de témoins est bien inférieure à celle de Reiber qui comptait 4380 patients. Peut-être que le nombre de témoins est trop faible pour permettre de retrouver la même répartition que celle observée par Reiber. Rappelons que son travail est resté unique et n'a pas fait l'objet d'une validation dans une cohorte différente. Il serait alors nécessaire de réaliser une étude sur une plus grande population de témoins, de plusieurs centres, afin de confirmer la reproductibilité du modèle hyperbolique de Reiber.

4.2. Performances du diagramme de Reiber dans le diagnostic de SEP

Les renseignements cliniques fournis par le clinicien nous ont permis de constituer une cohorte de 108 patients atteints de SEP. Leur profil cyto-immunologique du LCR est conforme aux résultats de la littérature. Nous notons une sensibilité de l'IEF légèrement inférieure (83,3% contre 91%) mais la plupart des articles utilisent d'anciens critères diagnostiques de la SEP.

Nous avons étudié les performances du diagramme de Reiber pour le diagnostic de SEP par rapport au groupe des patients sans SIT théorique connue. Sa sensibilité est meilleure que celle de l'index IgG (76,8% contre 75%) mais reste inférieure à celle de l'IEF. La littérature met en évidence un nombre élevé de faux positifs induits par l'index IgG lorsque le Qalb est élevé. Nous avons effectué notre étude uniquement pour des Qalb allant de 0 à 10×10^{-3} . Les performances du diagramme de Reiber auraient peut-être été meilleures en prenant un intervalle de Qalb plus large. Cependant, dans la majorité des SEP, la barrière sang-LCR n'est pas altérée. Nos conclusions vont dans le même sens que la littérature : l'IEF est la technique « gold standard » dans l'analyse du LCR dans le diagnostic de la SEP et les techniques quantitatives ne peuvent s'y substituer.

Nous nous sommes alors placés dans la situation où le clinicien, face à un patient présentant des signes cliniques, avec ou sans anomalies à l'IRM, compatibles avec une SEP, est en attente du résultat de l'IEF. Rappelons que le principal intérêt des techniques quantitatives est de signaler au clinicien une SIT en moins de 24h. Nous avons évalué la capacité du diagramme de Reiber à prédire la présence de BOC, en comparaison à l'index IgG. Les performances du diagramme de Reiber sont globalement proches de celles de l'index IgG (sensibilité de 81% contre 79%).

Le diagramme de Reiber permet de mettre en évidence une SIT non détectée par les techniques usuelles pour une seule patiente SEP. Leur utilisation n'aurait que peu d'impact sur la conclusion finale (SIT oui/non).

Nous avons également étudié les performances de nos normes laboratoires. Bien que plus adaptées à notre population que les normes de Reiber, leurs performances sont comparables. Le nombre total de cas discordants est faible (7 patients soit 4% des patients SEP et SCI).

4.3. SIT dans les SEP à ponction lombaire normale

Notre cohorte de patients SEP comprend 11% de patients dont la ponction lombaire est normale (BOC- et index IgG < 0,70). Nous avons mis en évidence chez ces patients un QIgG statistiquement supérieur à celui des témoins sans SIT théorique connue. Ce résultat est en faveur d'une SIT systématique infraliminaire dans les SEP à ponction lombaire normale. La SIT, très hétérogène entre les patients serait, dans certains cas, trop faible pour être détectée par les techniques actuelles. Les patients SEP apparemment dépourvus de SIT pourraient en fait avoir une SIT à bas bruit sous le seuil de sensibilité des techniques actuelles. Une étude sur le développement de la technique d'IEF capillaire a détecté une SIT chez les deux patients SEP BOC- en IEF classique (72). L'évolution des techniques permettra peut-être d'abaisser le seuil de sensibilité.

Chez les patients ayant présenté un SCI mais n'ayant pas converti en SEP, nous ne mettons pas en évidence cette SIT à bas bruit. 74% de ces patients ont été suivi et revu au moins une fois dans un délai moyen de 15 mois (minimum 1 mois, maximum 58 mois).

Une étude a montré la présence d'une expansion clonale intrathécale de cellules B chez la majorité des patients présentant un SCI (81%), précédant souvent l'apparition de BOC ou de lésions à l'IRM. Le suivi clinique des patients a démontré un haut risque de conversion en SEP chez ceux présentant une expansion clonale intrathécale de cellules B (94). Ces résultats suggèrent que le recrutement dans le SNC de LB s'enrichit après le début de la démyélinisation et est la première étape de l'initiation d'une SIT d'Ig. Le développement de la SIT, reflet de l'expansion clonale intrathécale de cellules B, serait donc un phénomène secondaire mais précoce, déterminant la récurrence clinique et l'inexorable progression de la SEP. Les anticorps auraient un rôle clé dans la physiopathologie de la SEP, encore mal connu. L'identification des mécanismes à l'origine du développement, ou non, de la SIT semble fondamental.

La SIT est très variable quantitativement entre les patients SEP. Les conséquences cliniques du taux de la SIT sont discutées. En effet, certaines études montrent que les patients BOC- sont enclins à une invalidité moins importante, à une forme bénigne de SEP (95,96), alors que d'autres ne mettent pas en évidence de différence significative entre patients BOC+ et BOC- au niveau du développement de l'invalidité, de la progression de la maladie, des sous-types de SEP (82,97-104).

Des études génétiques chez les patients SEP ont mis en évidence une association significative entre la présence de BOC et l'allèle HLA-DRB1*15, et entre l'absence de BOC et l'allèle HLA-DRB1*4 (96,99,100,105). De plus, le taux de patients SEP BOC+ varie selon les populations (38) : plus faible dans la population asiatique (100) et en Grèce (104), plus élevé dans la population afro-américaine (85). Une étude a montré une relation entre la présence de BOC et la latitude (44). Le taux de SIT chez les patients SEP pourrait refléter des facteurs immunogénétiques plutôt que l'activité clinique de la SEP.

Au-delà de cette réflexion théorique, nous pouvons penser qu'il serait alors pertinent, en pratique, de signaler au clinicien la position des patients par rapport à la courbe moyenne (QIgG < ou > à Qmean). Cette information pourrait avoir une valeur pronostique. Il est reconnu que la présence de BOC IgG dans le LCR d'un patient présentant un SCI augmente significativement le risque de conversion en SEP (40–46,106). Une position > à Qmean pourrait influencer le suivi du patient et inciter à être plus prudent (rythme des IRM de contrôle). Dans la mesure où les témoins sans SIT théorique connue se positionnent également de façon significative au-dessus de Qmean sur le diagramme de Reiber, une telle application ne serait possible localement qu'en utilisant les normes laboratoires, en attendant de valider, ou non, le diagramme de Reiber sur une plus grande population de témoins.

4.4. Evolution des pratiques au laboratoire du CH de Pau

Nous avons montré que l'utilisation de diagramme de Reiber n'a que peu d'impact sur le résultat final des patients. Il ne sera pas mis en place au laboratoire.

Ce travail nous a permis de faire le point sur l'examen immunologique du LCR au laboratoire. Actuellement, son interprétation est complexe, prenant en compte à la fois l'IEF, le Qalb et l'index IgG (logigramme présenté en *Figure 25*).

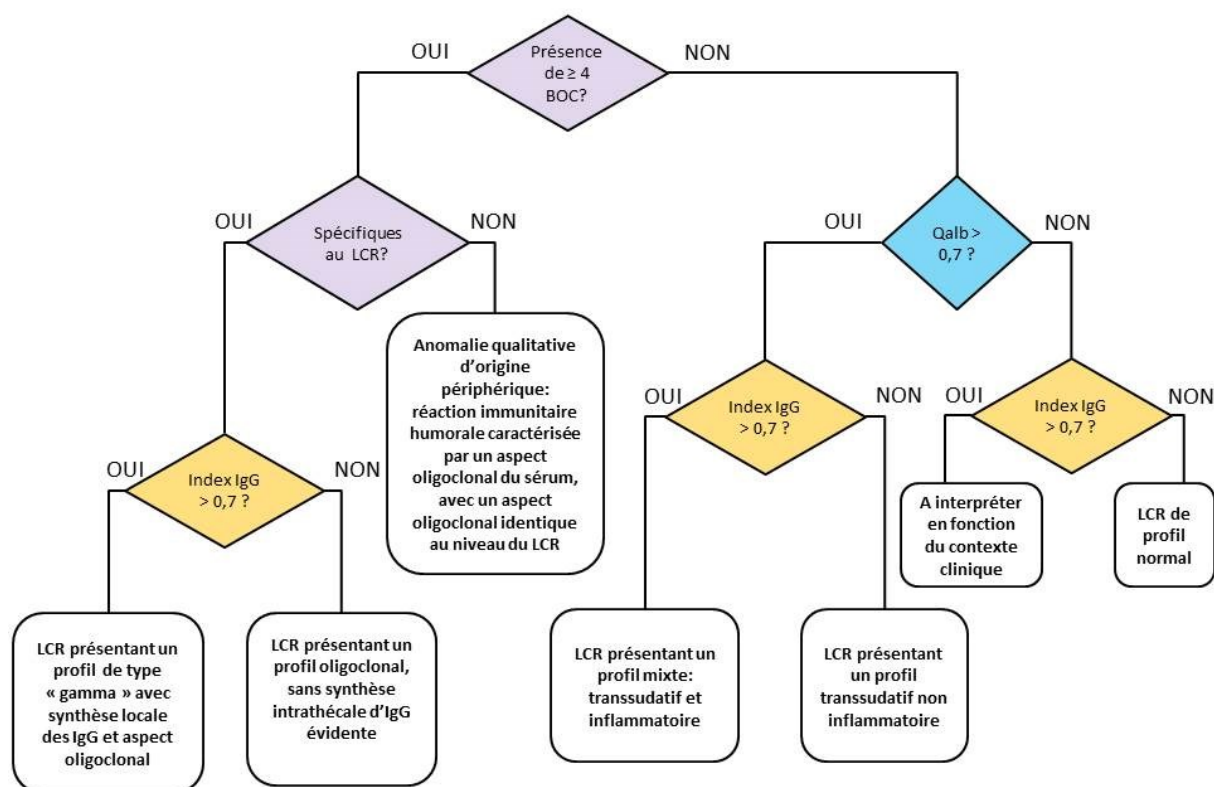


Figure 25 – Logigramme d'interprétation de l'examen immunologique du LCR au laboratoire du CH de Pau

Concernant l'IEF, le biologiste retient un seuil de ≥ 4 BOC spécifiques au LCR pour affirmer une SIT alors que la littérature mentionne un seuil de ≥ 2 BOC (33,38). Nous avons donc comparé les performances de l'IEF dans le diagnostic de SEP selon le seuil de BOC. Les résultats sont présentés dans le *Tableau 22*.

Tableau 22 – Performances diagnostiques de l'IEF dans la SEP selon le seuil de BOC retenu

Seuil de BOC	≥2 BOC	≥4 BOC
Se	83,3%	79,6%
Sp	96,8%	98,2%
VPP	90,9%	94,5%
VPN	93,8%	92,6%

La sensibilité de l'IEF lorsqu'un seuil de ≥ 4 BOC spécifiques au LCR est retenu pour affirmer une SIT, est proche de celle des techniques quantitatives, donc n'est pas satisfaisante. L'IEF perd alors tout son intérêt. Nous avons donc décidé de modifier le seuil à ≥ 2 BOC.

Nous sommes conscients de l'intérêt des cliniciens pour le dosage des IgM et IgA dans le LCR. En effet, lors de situations diagnostiques difficiles, la détection d'une SIT autre qu'IgG pourrait être un renseignement utile. Nous avons voulu étudier l'éventuelle instauration du dosage des IgA et IgM dans le LCR au laboratoire (technique immunoturbidimétrique sur automate Cobas[®] c501 de Roche). Nous avons sélectionné une dizaine de couples LCR/sérum congelés sur lesquels avait été réalisée l'IEF. Nous avons réalisé les dosages d'IgA et IgM en parallèle dans le LCR et le sérum en vue de calculer les QIgA et QIgM puis de les placer sur les diagrammes de Reiber correspondants. Cependant, tous les dosages sur les LCR ont donné des résultats inférieurs à la limite inférieure de détection du test, ne permettant pas de réaliser les calculs de quotients. Notre technique n'est pas assez sensible pour doser les IgA et IgM dans le LCR.

CONCLUSION

La SEP est une maladie inflammatoire chronique, démyélinisante et dégénérative du système nerveux central. Il s'agit de la première cause non traumatique de handicap sévère acquis du sujet jeune. Le seul élément biologique utile au diagnostic positif, bien que non spécifique de la SEP, est la mise en évidence d'une SIT IgG. L'IEF est la méthode de référence. Le modèle de Reiber, peu disponible dans les laboratoires, permet de mettre en évidence, plus rapidement, de façon quantitative la SIT.

Nous avons constitué une cohorte de patients témoins sans SIT théorique sur des critères à la fois cliniques et biologiques. Nous avons constaté un biais de répartition significatif de ces témoins au-dessus de la courbe moyenne. Les normes de Reiber ne sont pas complètement adaptées à nos témoins. Nous avons proposé des normes laboratoires, construites à partir de nos témoins.

Nous avons étudié les performances des normes de Reiber et des normes laboratoires dans la mise en évidence d'une SIT chez 108 patients atteints de SEP. Leur sensibilité est meilleure que celle de l'index IgG mais reste inférieure à celle de l'IEF et ne peuvent donc s'y substituer. L'utilisation de ces normes n'aurait que peu d'impact sur la conclusion finale (SIT oui/non). Aucune des deux normes ne sera mise en place au laboratoire.

Chez les 11% de patients SEP à ponction lombaire normale (BOC- et index IgG < 0,70), nous avons montré un QIgG moyen significativement supérieur à celui des témoins sans SIT théorique, contrairement aux patients SCI à ponction lombaire normale. Ces résultats sont en faveur d'une SIT systématique chez les patients SEP, parfois trop faible pour être détectée par les techniques actuelles, et donc d'un rôle déterminant de la SIT dans la physiopathologie de la maladie. La position d'un patient présentant un SCI au-dessus de la courbe moyenne pourrait avoir une valeur prédictive du risque de conversion en SEP, impactant sa prise en charge.

Ce travail rétrospectif observationnel démontre la nécessité d'une étude sur une plus grande population de témoins, de plusieurs centres, afin de confirmer la reproductibilité du modèle hyperbolique de Reiber, préalable à une utilisation en routine au laboratoire.

BIBLIOGRAPHIE

1. Haute Autorité de Santé. Sclérose en plaques Guide Affection de longue durée. 2006.
2. Fromont A, Binquet C, Sauleau EA, Fournel I, Bellisario A, Adnet J, et al. Geographic variations of multiple sclerosis in France. *Brain J Neurol*. 2010 Jul;133(Pt 7):1889–99.
3. Grimaud J, Auray J-P, Collectif SEP des villes et SEP des champs. [Quality of life and economic cost of multiple sclerosis]. *Rev Neurol (Paris)*. 2004 Jan;160(1):23–34.
4. Brassat D. Physiopathologie de la sclérose en plaques. *Presse Médicale*. 2010 Mar;39(3):341–8.
5. Fromont A, Moreau T. Sclérose en plaques. *Rev Prat*. 2013 Juin;63:851–9.
6. De Seze J, Confavreux C. [Multiple sclerosis: positive diagnosis]. *Rev Prat*. 2006 Jun 30;56(12):1321–5.
7. Ouallet J-C, Brochet B. Aspects cliniques, physiopathologiques, et thérapeutiques de la sclérose en plaques. *EMC - Neurol*. 2004 Oct;1(4):415–57.
8. Defer G, Brochet B, Pelletier J. Chapitre 2 - Symptômes, formes, évolution. In: Defer G, Brochet B, Pelletier J, editors. *Neuropsychologie de la sclérose en plaques* [Internet]. Paris: Elsevier Masson; 2010 [cited 2015 Mar 7]. p. 11–20. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9782294704697000022>
9. Kurtzke JF. Rating neurologic impairment in multiple sclerosis: an expanded disability status scale (EDSS). *Neurology*. 1983 Nov;33(11):1444–52.
10. Kurtzke JF. On the origin of EDSS. *Mult Scler Relat Disord*. 2015 Mar;4(2):95–103.
11. Chabas D. [Recent advances in the immunology of multiple sclerosis]. *Rev Neurol (Paris)*. 2006 Feb;162(2):162–73.
12. Salou M, Elong Ngono A, Garcia A, Michel L, Laplaud D-A. [Adaptative immunity and pathophysiology of multiple sclerosis]. *Rev Médecine Interne Fondée Par Société Natl Française Médecine Interne*. 2013 Aug;34(8):479–86.
13. Grigoriadis N, van Pesch V. A basic overview of multiple sclerosis immunopathology. *Eur J Neurol*. 2015 Oct;22 Suppl 2:3–13.
14. Baranzini SE, Hauser SL. Large-scale gene-expression studies and the challenge of multiple sclerosis. *Genome Biol*. 2002 Sep 16;3(10):reviews1027.
15. Brochet B. La part de l'inflammation dans la pathogénie de la sclérose en plaques. *Prat Neurol - FMC*. 2015 Mar;6(2):156–9.
16. Blauth K, Soltys J, Matschulat A, Reiter CR, Ritchie A, Baird NL, et al. Antibodies produced by clonally expanded plasma cells in multiple sclerosis cerebrospinal

- fluid cause demyelination of spinal cord explants. *Acta Neuropathol (Berl)*. 2015 Dec;130(6):765–81.
17. Wootla B, Denic A, Keegan BM, Winters JL, Astapenko D, Warrington AE, et al. Evidence for the role of B cells and immunoglobulins in the pathogenesis of multiple sclerosis. *Neurol Res Int*. 2011;2011:780712.
 18. Weber MS, Hemmer B, Cepok S. The role of antibodies in multiple sclerosis. *Biochim Biophys Acta BBA - Mol Basis Dis*. 2011 Feb;1812(2):239–45.
 19. Lauer K. The intrathecal immune response in multiple sclerosis: a different concept of “specificity.” *Med Hypotheses*. 1990 Apr;31(4):245–51.
 20. Lalive PH, Schluemp M, Chofflon M, Du Pasquier R. [Immunity and neurodegeneration: new concepts in multiple sclerosis]. *Rev Médicale Suisse*. 2006 May 3;2(64):1166–8, 1170.
 21. Hooper DC, Bagasra O, Marini JC, Zborek A, Ohnishi ST, Kean R, et al. Prevention of experimental allergic encephalomyelitis by targeting nitric oxide and peroxynitrite: implications for the treatment of multiple sclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997 Mar 18;94(6):2528–33.
 22. Bitsch A, Schuchardt J, Bunkowski S, Kuhlmann T, Brück W. Acute axonal injury in multiple sclerosis. Correlation with demyelination and inflammation. *Brain J Neurol*. 2000 Jun;123 (Pt 6):1174–83.
 23. Bonnan M. Intrathecal immune reset in multiple sclerosis: exploring a new concept. *Med Hypotheses*. 2014 Mar;82(3):300–9.
 24. Bonnan M. Organes lymphoïdes tertiaires méningés : des acteurs majeurs de l’auto-immunité intrathécale. *Rev Neurol (Paris)*. 2015 Jan;171(1):65–74.
 25. Popescu BFG, Lucchinetti CF. Meningeal and cortical grey matter pathology in multiple sclerosis. *BMC Neurol*. 2012;12:11.
 26. Holmøy T. The discovery of oligoclonal bands: a 50-year anniversary. *Eur Neurol*. 2009;62(5):311–5.
 27. Blauth K, Soltys J, Matschulat A, Reiter CR, Ritchie A, Baird NL, et al. Antibodies produced by clonally expanded plasma cells in multiple sclerosis cerebrospinal fluid cause demyelination of spinal cord explants. *Acta Neuropathol (Berl)*. 2015 Oct 28;
 28. Owens GP, Bennett JL, Lassmann H, O’Connor KC, Ritchie AM, Shearer A, et al. Antibodies produced by clonally expanded plasma cells in multiple sclerosis cerebrospinal fluid. *Ann Neurol*. 2009 Jun;65(6):639–49.
 29. Jacobi C, Lange P, Reiber H. Quantitation of intrathecal antibodies in cerebrospinal fluid of subacute sclerosing panencephalitis, herpes simplex encephalitis and multiple sclerosis: discrimination between microorganism-driven and polyspecific immune response. *J Neuroimmunol*. 2007 Jul;187(1-2):139–46.

30. Poser CM, Paty DW, Scheinberg L, McDonald WI, Davis FA, Ebers GC, et al. New diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines for research protocols. *Ann Neurol*. 1983 Mar;13(3):227–31.
31. McDonald WI, Compston A, Edan G, Goodkin D, Hartung HP, Lublin FD, et al. Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. *Ann Neurol*. 2001 Jul;50(1):121–7.
32. Polman CH, Reingold SC, Edan G, Filippi M, Hartung H-P, Kappos L, et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2005 revisions to the “McDonald Criteria.” *Ann Neurol*. 2005 Dec;58(6):840–6.
33. Polman CH, Reingold SC, Banwell B, Clanet M, Cohen JA, Filippi M, et al. Diagnostic criteria for multiple sclerosis: 2010 revisions to the McDonald criteria. *Ann Neurol*. 2011 Feb;69(2):292–302.
34. Montalban X, Sastre-Garriga J, Filippi M, Khaleeli Z, Téllez N, Vellinga MM, et al. Primary progressive multiple sclerosis diagnostic criteria: a reappraisal. *Mult Scler Houndmills Basingstoke Engl*. 2009 Dec;15(12):1459–65.
35. Brochet B. Etude du liquide céphalorachidien dans la sclérose en plaques. 2008 Mar;106(Cahier 2):5–11.
36. Pelletier J. [Is it always useful to perform lumbar puncture for the diagnosis of multiple sclerosis? No]. *Rev Neurol (Paris)*. 2015 Sep;171(8-9):607–10.
37. Tumani H, Deisenhammer F, Giovannoni G, Gold R, Hartung H-P, Hemmer B, et al. Revised McDonald criteria: the persisting importance of cerebrospinal fluid analysis. *Ann Neurol*. 2011 Sep;70(3):520; author reply 521.
38. Link H, Huang Y-M. Oligoclonal bands in multiple sclerosis cerebrospinal fluid: an update on methodology and clinical usefulness. *J Neuroimmunol*. 2006 Nov;180(1-2):17–28.
39. Miller DH, Chard DT, Ciccarelli O. Clinically isolated syndromes. *Lancet Neurol*. 2012 Feb;11(2):157–69.
40. Masjuan J, Alvarez-Cermeño JC, García-Barragán N, Díaz-Sánchez M, Espiño M, Sádaba MC, et al. Clinically isolated syndromes: a new oligoclonal band test accurately predicts conversion to MS. *Neurology*. 2006 Feb 28;66(4):576–8.
41. Tintoré M, Rovira A, Río J, Tur C, Pelayo R, Nos C, et al. Do oligoclonal bands add information to MRI in first attacks of multiple sclerosis? *Neurology*. 2008 Mar 25;70(13 Pt 2):1079–83.
42. Kuhle J, Disanto G, Dobson R, Adutori R, Bianchi L, Topping J, et al. Conversion from clinically isolated syndrome to multiple sclerosis: A large multicentre study. *Mult Scler Houndmills Basingstoke Engl*. 2015 Jul;21(8):1013–24.
43. Bosca I, Magraner MJ, Coret F, Álvarez-Cermeño JC, Simó-Castelló M, Villar LM, et al. The risk of relapse after a clinically isolated syndrome is related to the pattern of oligoclonal bands. *J Neuroimmunol*. 2010 Sep 14;226(1-2):143–6.

44. Dobson R, Ramagopalan S, Davis A, Giovannoni G. Cerebrospinal fluid oligoclonal bands in multiple sclerosis and clinically isolated syndromes: a meta-analysis of prevalence, prognosis and effect of latitude. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2013 Aug;84(8):909–14.
45. Ruet A, Deloire MSA, Ouallet J-C, Molinier S, Brochet B. Predictive factors for multiple sclerosis in patients with clinically isolated spinal cord syndrome. *Mult Scler Houndmills Basingstoke Engl*. 2011 Mar;17(3):312–8.
46. Ruet A, Arrambide G, Brochet B, Auger C, Simon E, Rovira A, et al. Early predictors of multiple sclerosis after a typical clinically isolated syndrome. *Mult Scler Houndmills Basingstoke Engl*. 2014 Nov;20(13):1721–6.
47. Zéphir H, Bodiguel E, Bensa C, Blanc F, Laplaud D, Magy L, et al. Recommendations for a definition of multiple sclerosis in support of early treatment. *Rev Neurol (Paris)*. 2012 Apr;168(4):328–37.
48. Caudie C. Le diagnostic biologique de la sclérose en plaques en 2012. *Feuill Biol*. 2012;LIII(308):21–6.
49. Regeniter A, Kuhle J, Mehling M, Möller H, Wurster U, Freidank H, et al. A modern approach to CSF analysis: pathophysiology, clinical application, proof of concept and laboratory reporting. *Clin Neurol Neurosurg*. 2009 May;111(4):313–8.
50. Wildemann B, Oschmann P. *Laboratory Diagnosis in Neurology*. Thieme; 2011. 431 p.
51. Andersson M, Alvarez-Cermeño J, Bernardi G, Cogato I, Fredman P, Frederiksen J, et al. Cerebrospinal fluid in the diagnosis of multiple sclerosis: a consensus report. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1994 Aug;57(8):897–902.
52. Freedman MS, Thompson EJ, Deisenhammer F, Giovannoni G, Grimsley G, Keir G, et al. Recommended standard of cerebrospinal fluid analysis in the diagnosis of multiple sclerosis: a consensus statement. *Arch Neurol*. 2005 Jun;62(6):865–70.
53. Reiber H, Thompson EJ, Grimsley G, Bernardi G, Adam P, Monteiro de Almeida S, et al. Quality assurance for cerebrospinal fluid protein analysis: international consensus by an Internet-based group discussion. *Clin Chem Lab Med CCLM FESCC*. 2003 Mar;41(3):331–7.
54. Gillain N, Fumal A, Minon J-M. Bandes oligoclonales et index IgG interprété selon Reiber dans les maladies inflammatoires du système nerveux central. *Immuno-Anal Biol Spéc*. 2006 Dec;21(6):348–56.
55. Vaubourdolle M. *Toxicologie, Sciences mathématiques, Physiques et Chimiques*. Wolters Kluwer France; 2007. 1060 p.
56. Desplat-Jego S, Bernard D, Garnier-Khalfallah I, Boucraut J. Sclérose en plaques: diagnostic en 2000. *Feuill Biol*. 2000;XXXXI(235):53–60.
57. Reiber H, Otto M, Trendelenburg C, Wormek A. Reporting cerebrospinal fluid data: knowledge base and interpretation software. *Clin Chem Lab Med CCLM FESCC*. 2001 Apr;39(4):324–32.

58. Tibbling G, Link H, Ohman S. Principles of albumin and IgG analyses in neurological disorders. I. Establishment of reference values. *Scand J Clin Lab Invest*. 1977 Sep;37(5):385–90.
59. Blennow K, Fredman P, Wallin A, Gottfries CG, Frey H, Pirttilä T, et al. Formulas for the quantitation of intrathecal IgG production. Their validity in the presence of blood-brain barrier damage and their utility in multiple sclerosis. *J Neurol Sci*. 1994 Jan;121(1):90–6.
60. Souverijn JH, Serrée HM, Peet R, Grenzebach Smit W, Bruyn GW. Intrathecal immunoglobulin synthesis. Comparison of various formulae with the “gold standard” of isoelectric focusing. *J Neurol Sci*. 1991 Mar;102(1):11–6.
61. Tourtellotte WW, Potvin AR, Fleming JO, Murthy KN, Levy J, Syndulko K, et al. Multiple sclerosis: measurement and validation of central nervous system IgG synthesis rate. *Neurology*. 1980 Mar;30(3):240–4.
62. Avettand-Fenoel V, Celton N, Coulhon MP, Duchassaing D. Étude immunologique des protéines du liquide céphalorachidien dans le contexte de sclérose en plaques : comparaison de techniques qualitatives et quantitatives. *Immuno-Anal Biol Spéc*. 2002 Sep;17(4):242–50.
63. Reiber H. Flow rate of cerebrospinal fluid (CSF)--a concept common to normal blood-CSF barrier function and to dysfunction in neurological diseases. *J Neurol Sci*. 1994 Apr;122(2):189–203.
64. Delaroche O, Evreux B, Bigot-Corbel E, Wiertlewsky S, Bailly F, Loubersac V, et al. Étude biochimique du liquide céphalorachidien dans le cadre de la sclérose en plaques. *Immuno-Anal Biol Spéc*. 2003 Apr 1;18(2):86–91.
65. Caudie C. Bandes oligoclonales d'IgG dans les maladies neurologiques inflammatoires: aspects méthodologiques et apport diagnostique. *Spectra Biol*. 2008;(169):63–9.
66. Tagajdid MR, Bouaiti M, Dami A, El Machtani Idrissi S, Bouhassain S, Ouzzif Z, et al. [Contribution of CSF/serum immunofixation to the diagnosis of inflammatory diseases of the central nervous system]. *Rev Neurol (Paris)*. 2011 Mar;167(3):225–30.
67. Desplat S, Pelletier J, Pouget J, Bellon F, Bernard D, Boucraut J. [Sensitized immunofixation: a new technique for analyzing the oligoclonal pattern of CSF immunoglobulins]. *Rev Neurol (Paris)*. 2000 Oct;156(10):885–9.
68. Caudie C, Allausen O, Bancel J. [Detection of oligoclonal IgG bands in in cerebrospinal fluid by immunofixation after electrophoretic migration in the automated Hydrasys sebja system]]. *Ann Biol Clin (Paris)*. 2000 Jun;58(3):376–9.
69. Mehta PD. Diagnostic usefulness of cerebrospinal fluid in multiple sclerosis. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 1991;28(3):233–51.
70. Boucraut J, Desplat-Jego S, Duplan L, Verdier JM, Michel B, Bernard D. [Cerebrospinal fluid in neurodegenerative dementia pathologies]. *Ann Biol Clin (Paris)*. 2000 Jun;58(3):361–6.

71. Gillain N, Fumal A, Nève C, Minon J-M, Maertens de Noordhout A. Interprétation de l'index IgG et du diagramme de Reiber par Protis 2 dans les maladies inflammatoires du système nerveux central. *Immuno-Anal Biol Spéc.* 2009 Jun;24(3):135-47.
72. Halbgebauer S, Haußmann U, Klafki H, Tumani H, Wiltfang J, Otto M. Capillary isoelectric focusing immunoassay as a new nanoscale approach for the detection of oligoclonal bands. *Electrophoresis.* 2015 Jan;36(2):355-62.
73. Wehr T. 9 Capillary isoelectric focusing. In: Ahuja DG and S, editor. *Separation Science and Technology* [Internet]. Academic Press; 2005 [cited 2015 May 17]. p. 181-210. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0149639505800121>
74. Davies G, Keir G, Thompson EJ, Giovannoni G. The clinical significance of an intrathecal monoclonal immunoglobulin band: a follow-up study. *Neurology.* 2003 Apr 8;60(7):1163-6.
75. Caudie C, Birouk AM, Bancel J, Claudy D, Gignoux L, Vukusic S, et al. Le profil cytoimmunologique du LCR lors du diagnostic précoce de la sclérose en plaques. *Pathol Biol.* 2005 Mar;53(2):68-74.
76. Pohl D, Rostasy K, Reiber H, Hanefeld F. CSF characteristics in early-onset multiple sclerosis. *Neurology.* 2004 Nov 23;63(10):1966-7.
77. Rinker JR, Trinkaus K, Naismith RT, Cross AH. Higher IgG index found in African Americans versus Caucasians with multiple sclerosis. *Neurology.* 2007 Jul 3;69(1):68-72.
78. Reiber H. Cerebrospinal fluid--physiology, analysis and interpretation of protein patterns for diagnosis of neurological diseases. *Mult Scler Houndmills Basingstoke Engl.* 1998 Jun;4(3):99-107.
79. Davenport RD, Keren DF. Oligoclonal bands in cerebrospinal fluids: significance of corresponding bands in serum for diagnosis of multiple sclerosis. *Clin Chem.* 1988 Apr;34(4):764-5.
80. Mares J, Herzig R, Urbanek K, Sladkova V, Sklenarova J, Bekarek V, et al. Correlation of the IgG index and oligoclonal bands in the cerebrospinal fluid of patients with multiple sclerosis. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacký Olomouc Czechoslov.* 2008 Dec;152(2):247-9.
81. Ouallet J-C, Bodiguel E, Bensa C, Blanc F, Brassat D, Laplaud D, et al. Recommendations for useful serum testing with suspected multiple sclerosis. *Rev Neurol (Paris).* 2013 Jan;169(1):37-46.
82. Villar LM, Masterman T, Casanova B, Gómez-Rial J, Espiño M, Sádaba MC, et al. CSF oligoclonal band patterns reveal disease heterogeneity in multiple sclerosis. *J Neuroimmunol.* 2009 Jun 25;211(1-2):101-4.
83. Awad A, Hemmer B, Hartung H-P, Kieseier B, Bennett JL, Stuve O. Analyses of cerebrospinal fluid in the diagnosis and monitoring of multiple sclerosis. *J Neuroimmunol.* 2010 Feb 26;219(1-2):1-7.

84. Mandrioli J, Sola P, Bedin R, Gambini M, Merelli E. A multifactorial prognostic index in multiple sclerosis. Cerebrospinal fluid IgM oligoclonal bands and clinical features to predict the evolution of the disease. *J Neurol*. 2008 Jul;255(7):1023–31.
85. Rinker JR, Trinkaus K, Cross AH. Elevated CSF free kappa light chains correlate with disability prognosis in multiple sclerosis. *Neurology*. 2006 Oct 10;67(7):1288–90.
86. Zeman D, Hradilek P, Kusnierova P, Piza R, Reguliova K, Woznicova I, et al. Oligoclonal free light chains in cerebrospinal fluid as markers of intrathecal inflammation. Comparison with oligoclonal IgG. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czechoslov*. 2014 Dec 5;
87. Kaplan B, Aizenbud BM, Golderman S, Yaskariiev R, Sela B-A. Free light chain monomers in the diagnosis of multiple sclerosis. *J Neuroimmunol*. 2010 Dec 15;229(1–2):263–71.
88. Schuller E, Sagar HJ. Central nervous system IgG synthesis in multiple sclerosis. Application of a new formula. *Acta Neurol Scand*. 1983 Jun;67(6):365–71.
89. Reiber H, Felgenhauer K. Protein transfer at the blood cerebrospinal fluid barrier and the quantitation of the humoral immune response within the central nervous system. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. 1987 Mar 30;163(3):319–28.
90. Reiber H. The hyperbolic function: A mathematical solution of the protein flux/CSF flow model for blood-CSF barrier function a reply to the letter by S. Öhman (*J. Neurol. Sci.*, 126 (1994) 240–242). *J Neurol Sci*. 1994 Nov;126(2):243–5.
91. Reiber H. Dynamics of brain-derived proteins in cerebrospinal fluid. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. 2001 Aug 20;310(2):173–86.
92. Reiber H, Peter JB. Cerebrospinal fluid analysis: disease-related data patterns and evaluation programs. *J Neurol Sci*. 2001 Mar 1;184(2):101–22.
93. Villar LM, González-Porqué P, Masjuán J, Alvarez-Cermeño JC, Bootello A, Keir G. A sensitive and reproducible method for the detection of oligoclonal IgM bands. *J Immunol Methods*. 2001 Dec 1;258(1-2):151–5.
94. Qin Y, Duquette P, Zhang Y, Olek M, Da R-R, Richardson J, et al. Intrathecal B-cell clonal expansion, an early sign of humoral immunity, in the cerebrospinal fluid of patients with clinically isolated syndrome suggestive of multiple sclerosis. *Lab Invest J Tech Methods Pathol*. 2003 Jul;83(7):1081–8.
95. Joseph FG, Hirst CL, Pickersgill TP, Ben-Shlomo Y, Robertson NP, Scolding NJ. CSF oligoclonal band status informs prognosis in multiple sclerosis: a case control study of 100 patients. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 2009 Mar;80(3):292–6.
96. Mero I-L, Gustavsen MW, Sæther HS, Flåm ST, Berg-Hansen P, Søndergaard HB, et al. Oligoclonal band status in Scandinavian multiple sclerosis patients is associated with specific genetic risk alleles. *PloS One*. 2013;8(3):e58352.
97. Siritho S, Freedman MS. The prognostic significance of cerebrospinal fluid in multiple sclerosis. *J Neurol Sci*. 2009 Apr 15;279(1-2):21–5.

98. Goris A, Pauwels I, Gustavsen MW, van Son B, Hilven K, Bos SD, et al. Genetic variants are major determinants of CSF antibody levels in multiple sclerosis. *Brain J Neurol*. 2015 Mar;138(Pt 3):632–43.
99. Imrell K, Landtblom A-M, Hillert J, Masterman T. Multiple sclerosis with and without CSF bands: clinically indistinguishable but immunogenetically distinct. *Neurology*. 2006 Sep 26;67(6):1062–4.
100. Kikuchi S, Fukazawa T, Niino M, Yabe I, Miyagishi R, Hamada T, et al. HLA-related subpopulations of MS in Japanese with and without oligoclonal IgG bands. *Human leukocyte antigen*. *Neurology*. 2003 Feb 25;60(4):647–51.
101. Koch M, Heersema D, Mostert J, Teelken A, De Keyser J. Cerebrospinal fluid oligoclonal bands and progression of disability in multiple sclerosis. *Eur J Neurol Off J Eur Fed Neurol Soc*. 2007 Jul;14(7):797–800.
102. Lourenco P, Shirani A, Saeedi J, Oger J, Schreiber WE, Tremlett H. Oligoclonal bands and cerebrospinal fluid markers in multiple sclerosis: associations with disease course and progression. *Mult Scler Houndmills Basingstoke Engl*. 2013 Apr;19(5):577–84.
103. Moroso A, Deloire MSA, Ruet A, Ouallet J-C, Casey R, Brochet B. Does cerebrospinal fluid analysis add predictive value to magnetic resonance imaging for long term irreversible disability in patients with early multiple sclerosis? *J Neurol Sci*. 2015 May 2;
104. Andreadou E, Chatzipanagiotou S, Constantinides VC, Rombos A, Stamboulis E, Nicolaou C. Prevalence of cerebrospinal fluid oligoclonal IgG bands in Greek patients with clinically isolated syndrome and multiple sclerosis. *Clin Neurol Neurosurg*. 2013 Oct;115(10):2094–8.
105. Yoshimura S, Isobe N, Yonekawa T, Matsushita T, Masaki K, Sato S, et al. Genetic and infectious profiles of Japanese multiple sclerosis patients. *PloS One*. 2012;7(11):e48592.
106. De Seze J, Papeix C. Syndrome clinique isolé à IRM normale. *Prat Neurol - FMC*. 2010 Apr;1(1, Supplement 1):F19–21.

ANNEXES

Annexe 1 – Critères diagnostiques de la SEP

Critères IRM de dissémination spatiale (5)

La dissémination spatiale est démontrée par la présence d'au moins 1 lésion T2 dans au moins 2 des 4 zones suivantes :

- Périventriculaire
- Juxta-corticale
- Infra-tentorielle
- Moelle épinière

Une prise de gadolinium n'est pas requise pour la dissémination spatiale.

En cas de syndrome du tronc cérébral ou de la moelle épinière, les lésions symptomatiques sont exclues de ces critères et ne contribuent pas au comptage des lésions.

Critères IRM de dissémination temporelle (5)

La dissémination temporelle peut être démontrée par :

- Une nouvelle lésion T2 et/ou une prise de gadolinium sur le suivi IRM quel que soit le délai par rapport à l'IRM initiale
- La présence simultanée de lésions asymptomatiques prenant le gadolinium et d'autres ne le prenant pas quel que soit le moment de la réalisation de l'IRM.

Critères de McDonald 2010 (5)

Présentations cliniques	Données supplémentaires afin de poser le diagnostic de sclérose en plaques
≥ 2 poussées avec signes cliniques objectifs de 2 lésions au moins	Aucune
≥ 2 poussées avec signes cliniques objectifs d'une lésion ET un antécédent caractéristique de sclérose en plaques (sémiologie, évolution)	Aucune
≥ 2 poussées avec signes cliniques objectifs d'une lésion	<p><u>La dissémination dans l'espace pourra être retenue si :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • L'IRM montre 1 lésion au moins dans 2 des 4 régions caractéristiques de sclérose en plaques (périventriculaire, juxtacorticale, sous-tentorielle*, médullaire*) • Ou si le patient présente une poussée dans un autre territoire
1 poussée avec signes cliniques objectifs de 2 lésions au moins	<p><u>La dissémination dans le temps pourra être retenue si :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • L'IRM montre la présence simultanée de lésions asymptomatiques dont certaines sont rehaussées par le gadolinium et d'autres non OU la présence d'une nouvelle lésion T2 et/ou d'une nouvelle lésion prenant le gadolinium (quel que soit le délai entre les deux clichés) • Ou si le patient présente une nouvelle poussée
1 poussée avec signes cliniques objectifs d'une lésion (syndrome clinique isolé ou premier événement démyélinisant)	<p><u>La dissémination dans l'espace pourra être retenue si :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • L'IRM montre 1 lésion au moins dans 2 des 4 régions caractéristiques de sclérose en plaques (périventriculaire, juxtacorticale, sous-tentorielle*, médullaire*) • Ou si le patient présente une poussée dans un autre

	<p>territoire</p> <p><u>La dissémination dans le temps pourra être retenue si :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> • L'IRM montre la présence simultanée de lésions asymptomatiques dont certaines sont rehaussées par le gadolinium et d'autres non OU la présence d'une nouvelle lésion T2 et/ou d'une nouvelle lésion prenant le gadolinium (quel que soit le délai entre les deux clichés) • Ou si le patient présente une nouvelle poussée
<p>Aggravation progressive de symptômes neurologiques évocateurs de sclérose en plaques (primaire progressive)</p>	<p>Présence d'une aggravation de la maladie sur un an (de manière rétrospective ou dans le cadre d'un suivi) ET 2 des 3 critères suivants :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Mise en évidence d'une dissémination spatiale au niveau encéphalique (≥ 1 lésion T2 dans au moins 1 région caractéristique de la sclérose en plaques (périventriculaire, juxta-corticale, sous-tentotielle)) • Mise en évidence d'une dissémination spatiale au niveau médullaire (≥ 2 lésions T2 médullaires) • Mise en évidence d'une synthèse intrathécale d'immunoglobulines (présence d'une augmentation de l'index IgG et/ou de bandes oligoclonales)

*Si le patient présente une symptomatologie médullaire ou du tronc cérébral, la/les lésion(s) symptomatique(s) ne sont pas prises en compte dans ce calcul.

SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'Ordre des Pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit(e) dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert(e) d'opprobre et méprisé(e) de mes confrères si j'y manque.

RESUME :

La sclérose en plaques (SEP) est une maladie inflammatoire chronique, démyélinisante et dégénérative du système nerveux central. Le seul argument biologique utile au diagnostic positif est la mise en évidence d'une synthèse intrathécale (SIT) d'IgG qualitative ou quantitative, cependant non spécifique. Reiber a établi un modèle hyperbolique. L'objectif principal est d'étudier ses performances pour mettre en évidence la SIT dans la SEP, après l'avoir validé sur une cohorte de patients témoins. Méthode. A partir de la liste des focalisations isoélectriques (IEF) réalisées au laboratoire du CH de Pau de 2005 à 2014, nous avons sélectionné des témoins sans SIT théorique sur des critères cliniques et biologiques, et nous avons identifié les patients atteints de SEP. Résultats. Nous avons constaté que les normes de Reiber ne sont pas adaptées à nos 251 témoins (répartis significativement au-dessus de la courbe moyenne, $p < 0,0001$). L'utilisation des normes de Reiber améliore peu la détection de la SIT chez les 108 patients SEP par rapport à l'index IgG (sensibilité de 76,8% contre 75%), et reste moins sensible que l'IEF (sensibilité de 83,3%). Chez les 11% de patients SEP à ponction lombaire normale (absence de BOC et index IgG $< 0,70$), nous avons montré un Quotient IgG moyen (IgG LCR/IgG sérum) significativement supérieur à celui des témoins sans SIT théorique ($p = 0,0092$), signe de l'existence d'une SIT à bas bruit. Conclusion. Le modèle de Reiber ne peut se substituer à l'IEF et nécessite une confirmation de sa reproductibilité par une autre étude avant une utilisation au laboratoire.

DISCIPLINE : Biologie Médicale

MOTS-CLES : synthèse intrathécale – sclérose en plaques – Reiber – bandes oligoclonales – index IgG

INTITULE ET ADRESSE DU LABORATOIRE : Laboratoire de Biologie Médicale – Centre Hospitalier de Pau, 4 boulevard Hauterive – 64000 Pau.