

# MALADIES INFLAMMATOIRES CHRONIQUES DE L'INTESTIN & CALPROTECTINE FÉCALE : VERS LE SUIVI NON-INVASIF ?

**Claude BENDAVID**

**Guillaume BOUGUEN**

CHRU Rennes – Pontchaillou  
Université Rennes 1

## Conflits d'intérêt

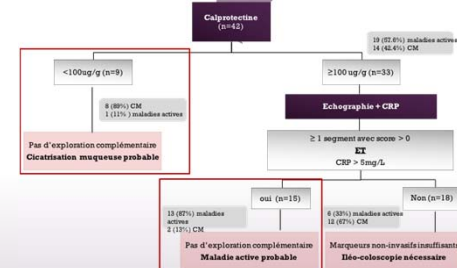
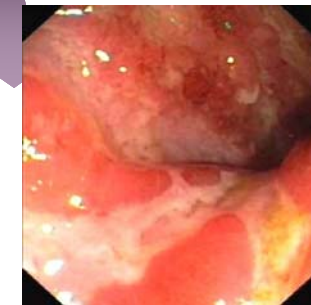
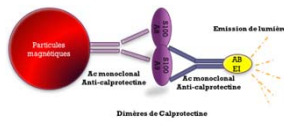
- Pr Claude Bendavid

- Conférencier: Diasorin
- Consultant: Roche, Sebia

- Pr Guillaume Bouguen

- Conférencier: Diasorin, Abbvie, MSD, Takeda, Ferring, HAC Pharma, Janssen
- Consultant: Abbvie, Takeda

# Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin & calprotectine fécale



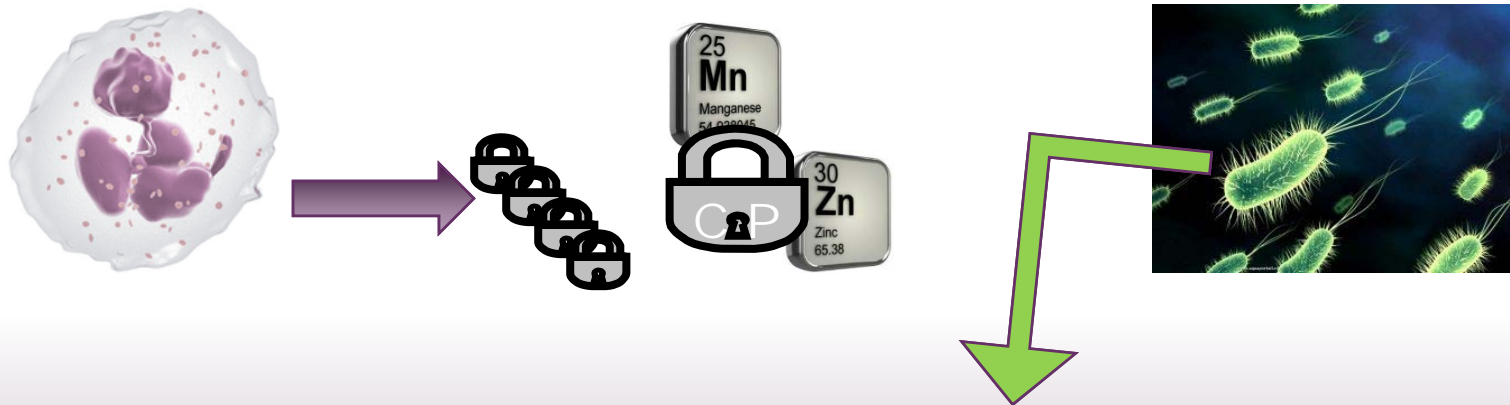


# La calprotectine fécale

Propriétés et rôles physiologiques

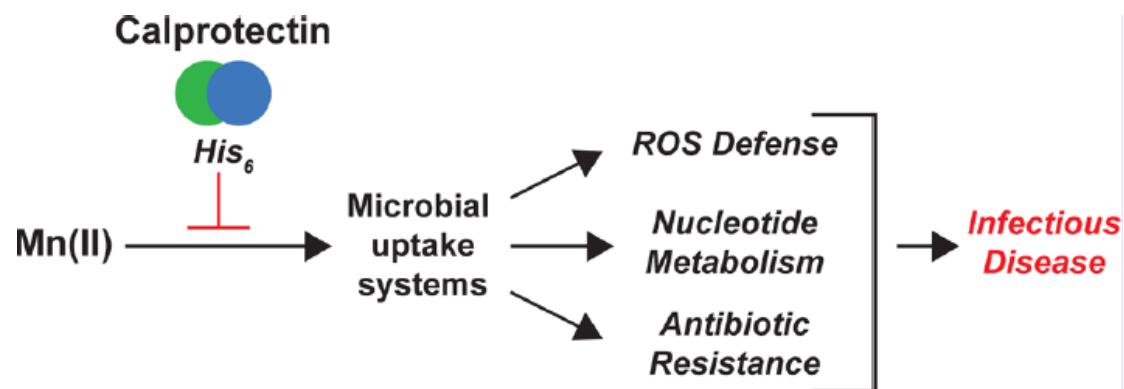
## Calprotectine : rôles physiologiques

- Protéine représentant 40-60 % du pool cytoplasmique des PNN
- Hétérodimère 24 kDa ou tétramère 48 kDa de la famille des protéines S100 : S100A8-S100A9
- Rôle dans l'immunité innée (idem lactoferrine –Fer)
- Séquestration calcium dépendante du Zinc et du Manganèse lors de sa libération dans les tissus infectés (inflammation ou lyse du PNN)
- Moyen de lutte pour limiter l'accès microbien au Mn, Zn : déprivation de coenzymes métalliques



## Calprotectine : rôles physiologiques

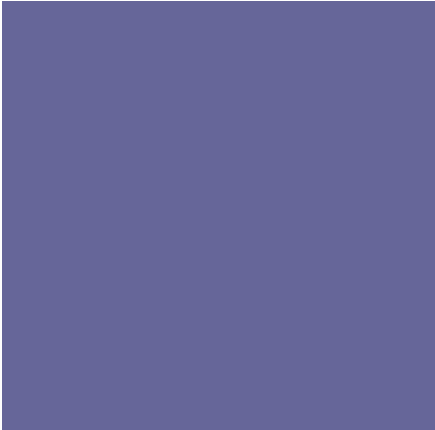
- Le Manganèse est indispensable à de nombreux pathogènes pour maintenir leur potentiel infectieux
- Fixation des ions à l'interface entre les deux sous-unités avec 2 sites possibles à forte affinité (calcium dépendante)
  - Un site spécifique du Zinc
  - Un site mixte pour Zinc ou Manganèse



## Calprotectine : rôles physiologiques

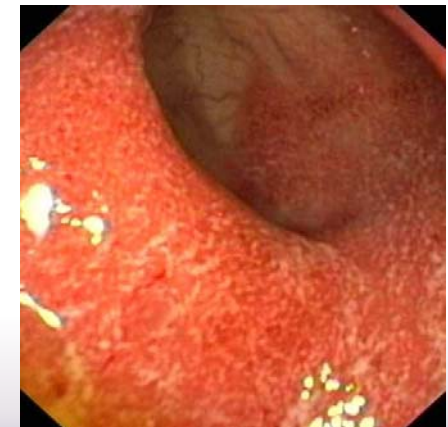
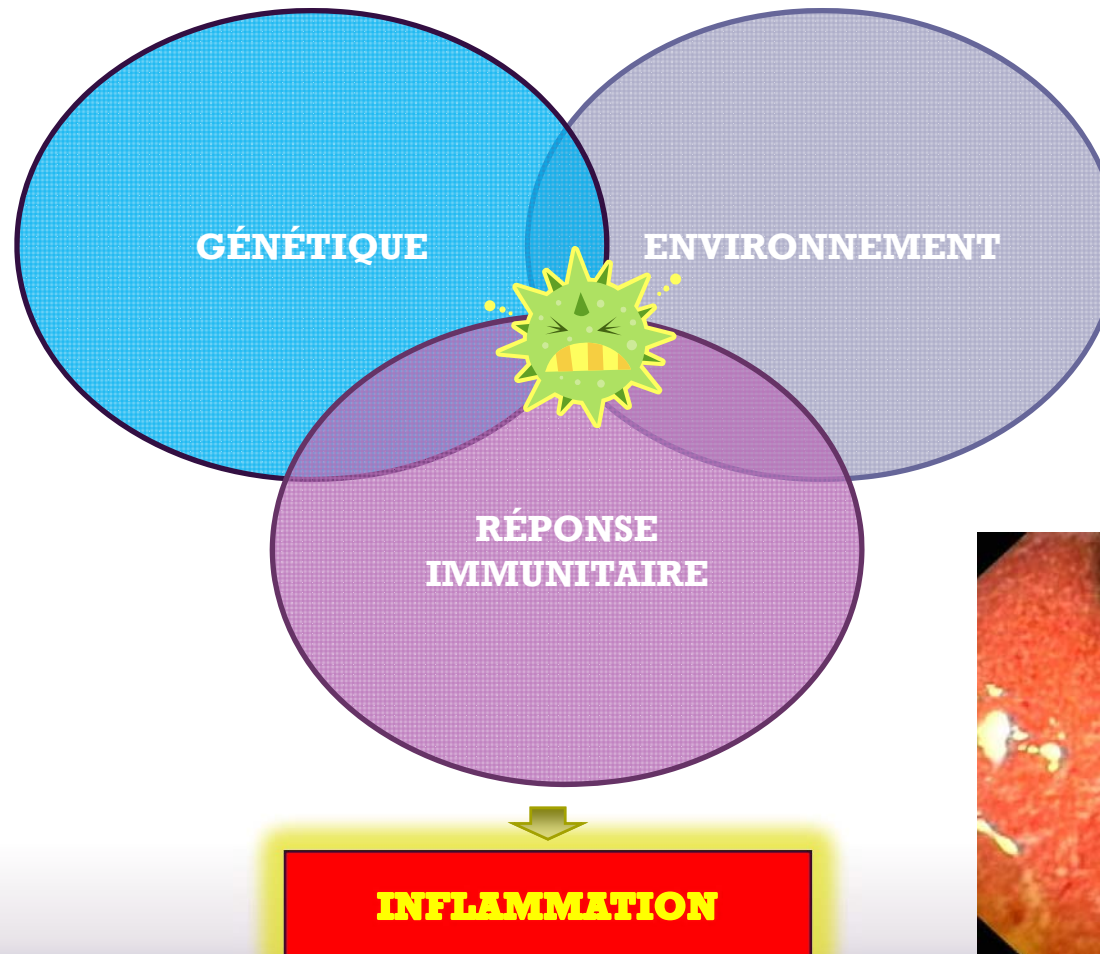
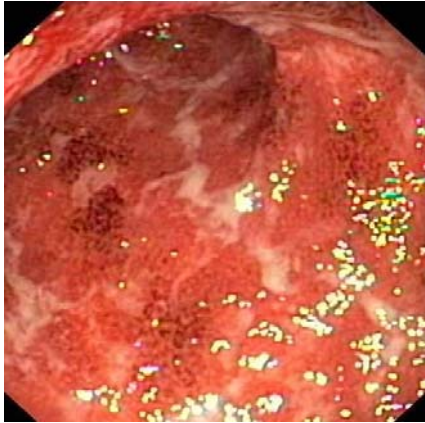
- Présence possible dans la lumière intestinale suite à la migration des PNN, la sécrétion active et/ou la mort cellulaire
- Présence proportionnelle à cette migration intestinale
- Marqueur résistant à la dégradation enzymatique et donc retrouvé dans les selles où il est mesurable en immunoanalyse
- élévation en cas d'inflammation, hémorragie, infection, intolérances alimentaire
- L'absence d'élévation est intéressante en diagnostic d'exclusion (syndrome d'intestin irritable)

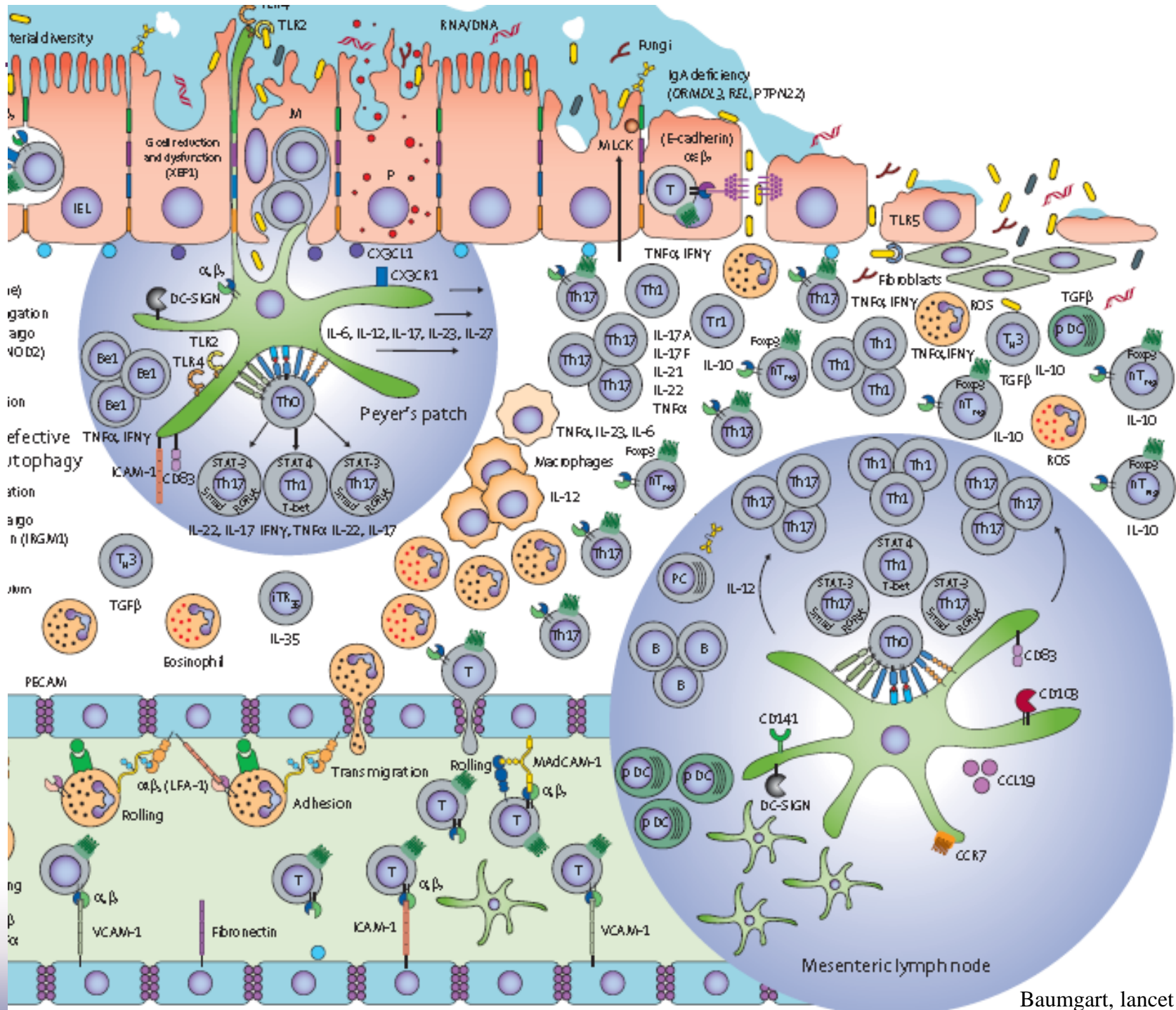
MICI



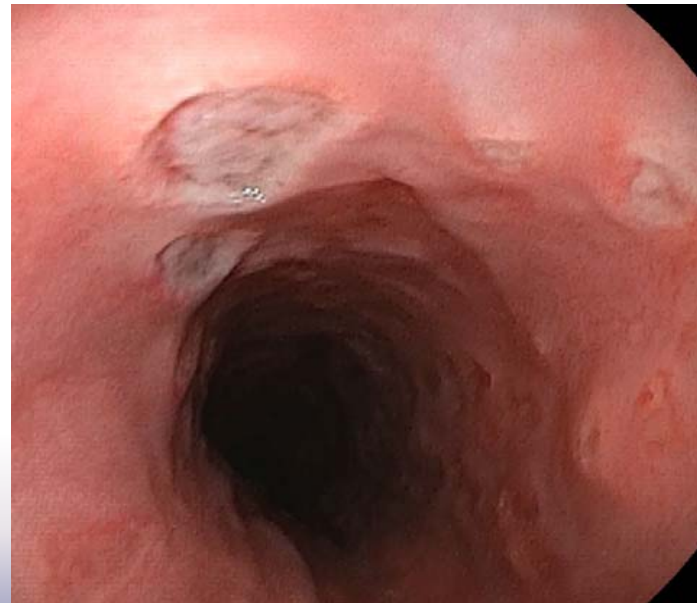
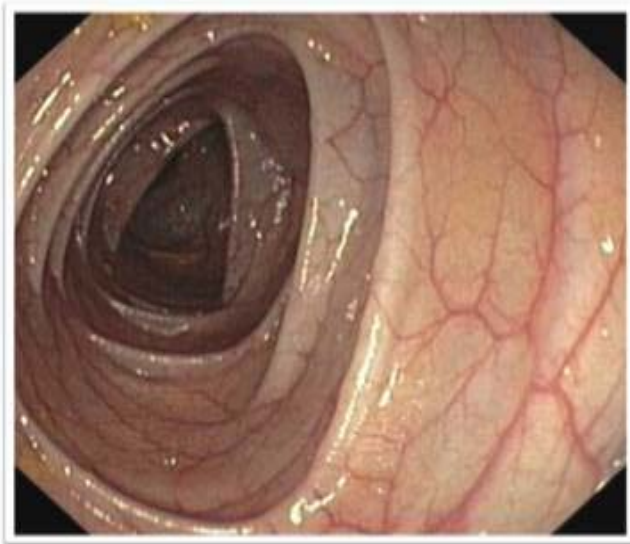


# MICI : Physiopathologie





🌀 Le diagnostic est avant tout fait par l'endoscopie

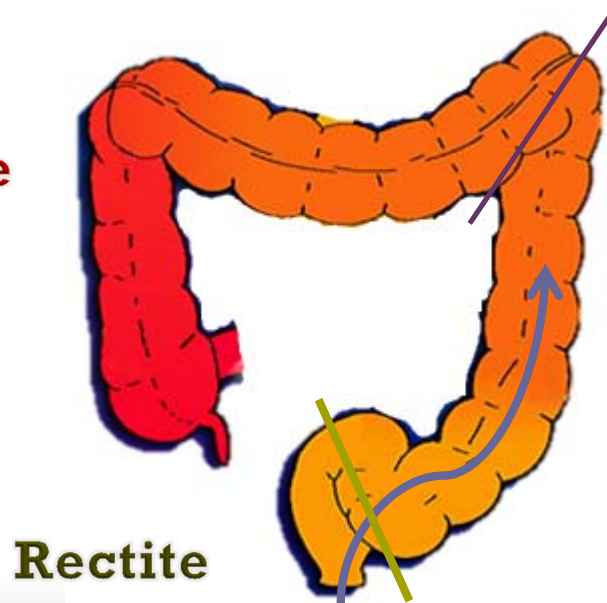




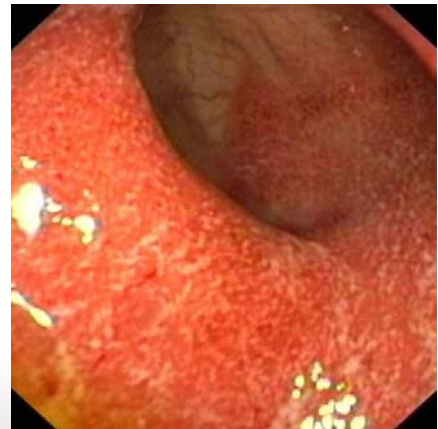
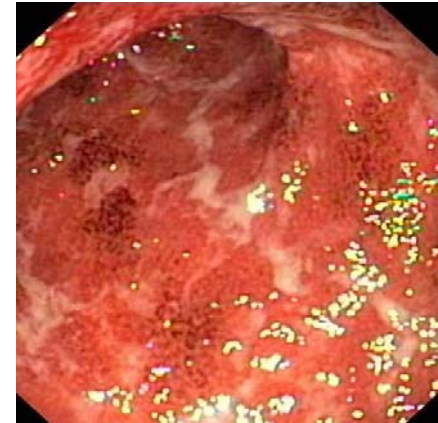
## ☚ La recto-colite hémorragique (rch)

Atteintes systématiques du rectum  
3 niveaux d'extension

**Pancolite**



**Colite  
gauche**



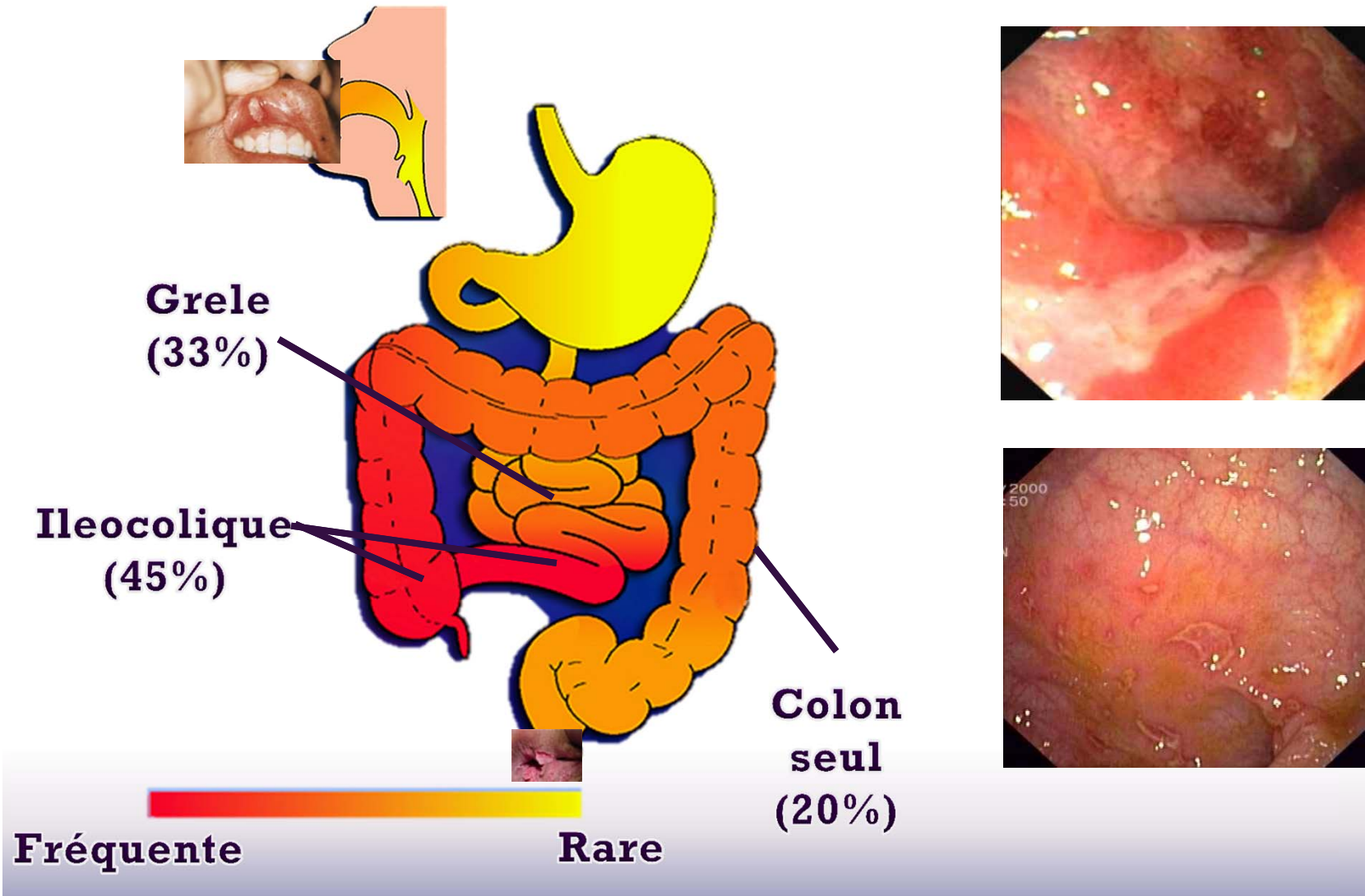
## RCH : Symptômes ... la dysenterie !

- Syndrome rectale +++
  - Faux besoin
  - Imperiosité fécale
  - Tenesme et epreinte
  
- Diarrhée
  - Glaireuse et sanglante (++)
  - Douleurs abdominales (fonction sévérité)
  - Altération état générale (fonction sévérité)

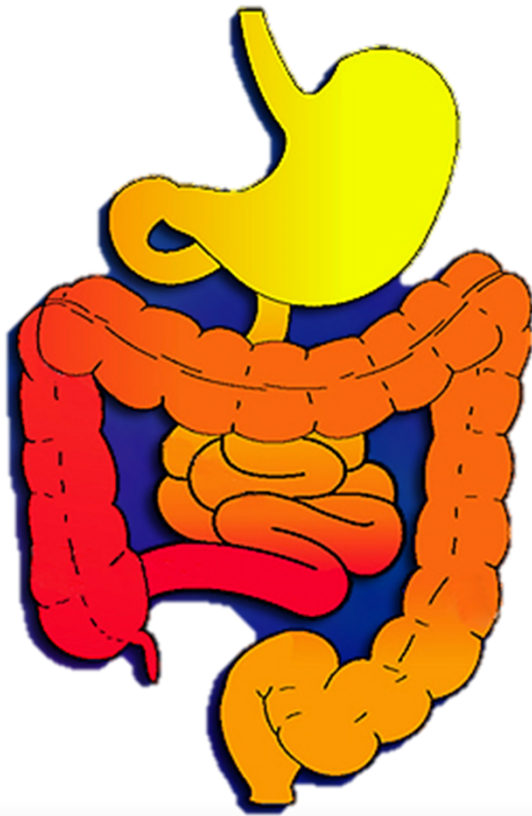
SIGNES CLINIQUES	RCH
DIARRHÉE	93%
SANG DANS LES SELLES	95%
DOULEURS ABDOMINALES	69%
PERTE DE POIDS	55%
RETARD DE CROISSANCE	10%
LÉSIONS PÉRI-ANALES	7%

# Une maladie digestive

## La Maladie de Crohn



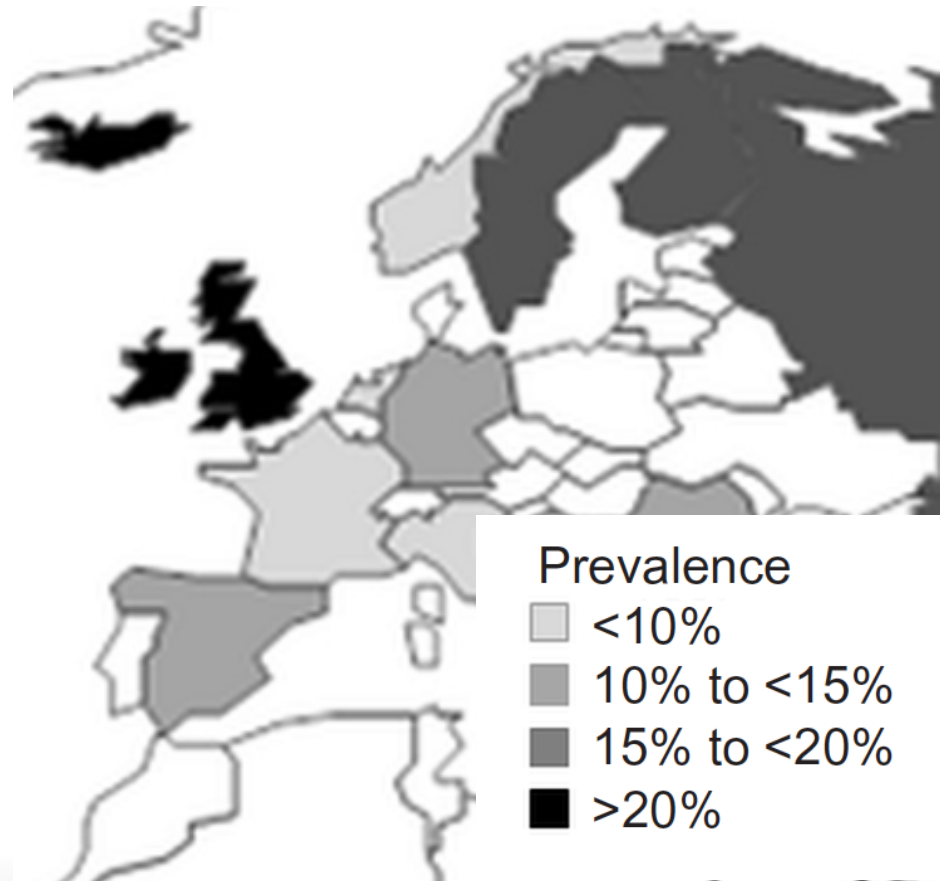
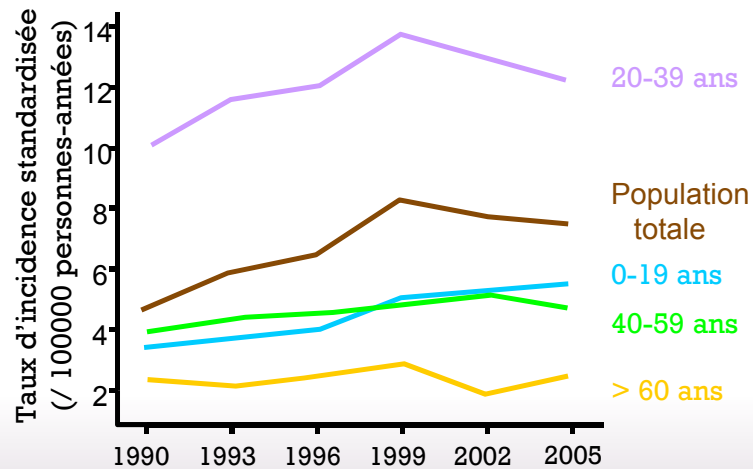
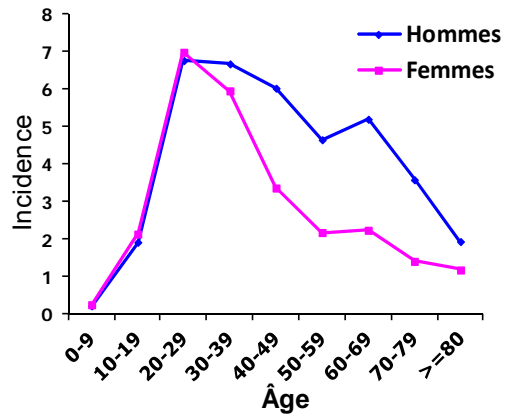
## Des symptômes digestifs non spécifiques



<b>SIGNES CLINIQUES</b>	<b>MC</b>	<b>RCH</b>
DIARRHÉE	<b>78%</b>	93%
SANG DANS LES SELLES	<b>49%</b>	95%
DOULEURS ABDOMINALES	<b>86%</b>	69%
PERTE DE POIDS	<b>80%</b>	55%
RETARD DE CROISSANCE	<b>30%</b>	10%
LÉSIONS PÉRI-ANALES	<b>44%</b>	7%

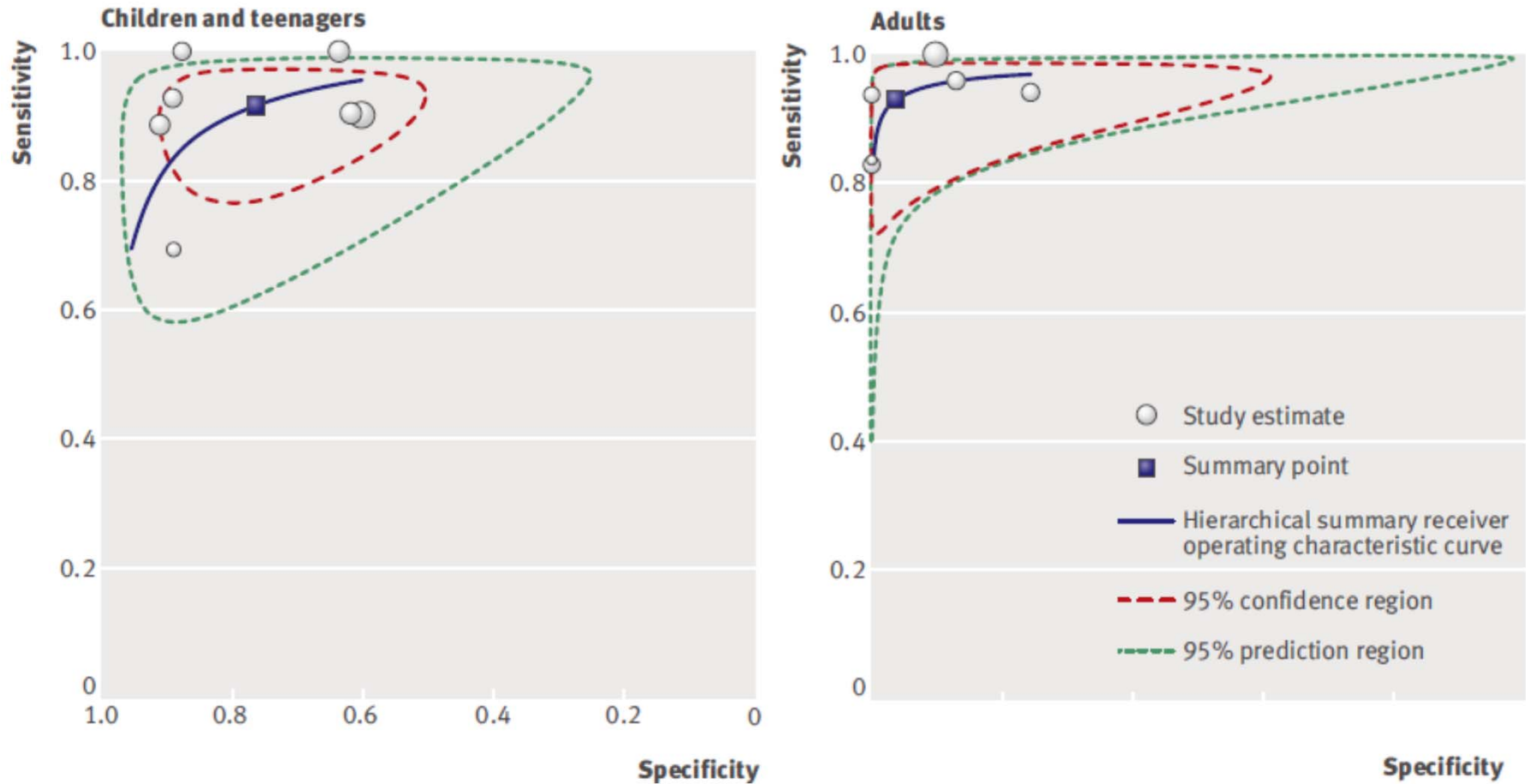
# Epidémiologie : MICI vs SII

200 000 à 300 000 cas en France

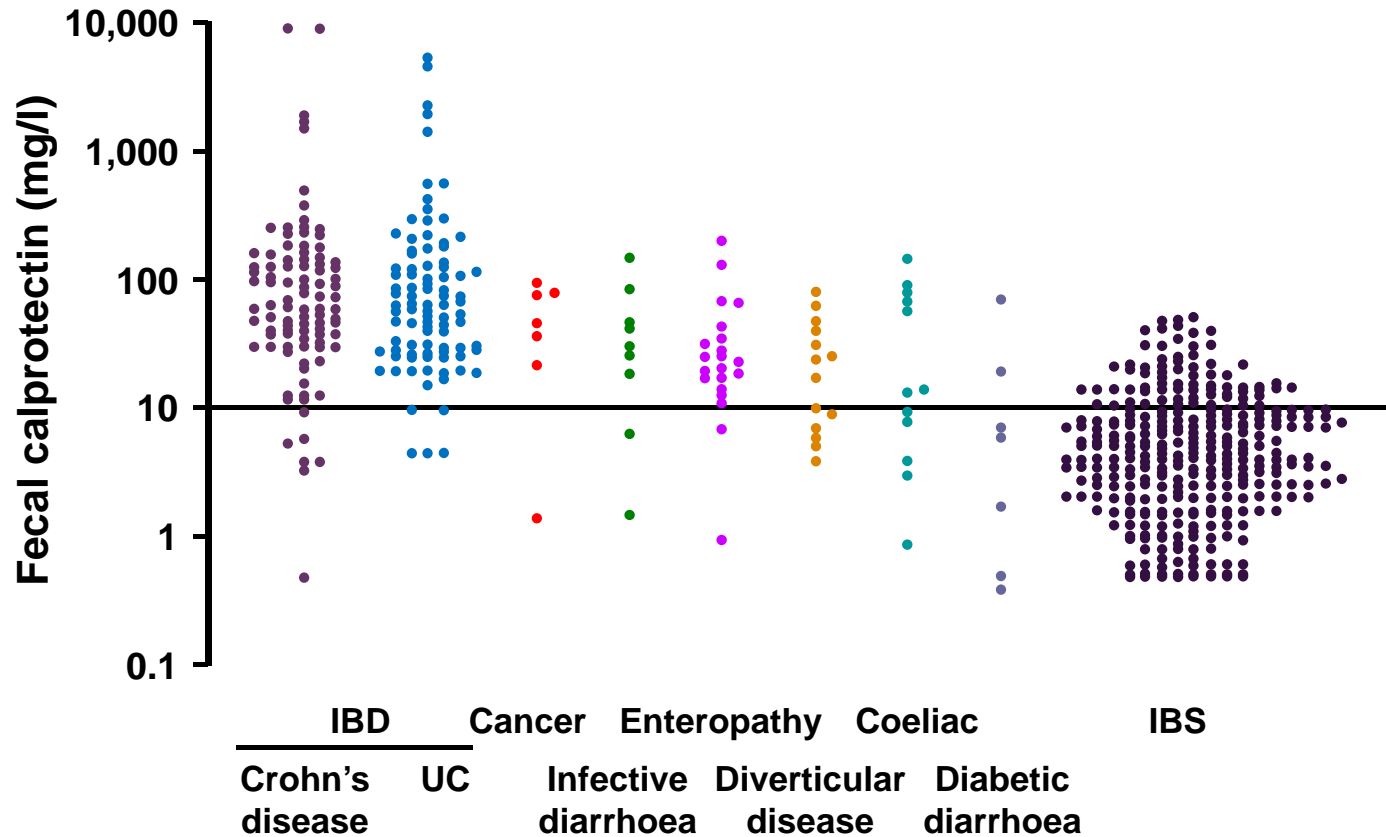




# ☞ Limiter le recours inutile à la coloscopie ?



# Niveau de calprotectine fécale en fonction des maladies digestives



Organic disease: sensitivity 89% and specificity 79% at 50  $\mu\text{g/g}$  threshold

Tibble JA *et al.* *Gastroenterology* 2002;123:450-60

# La pratique

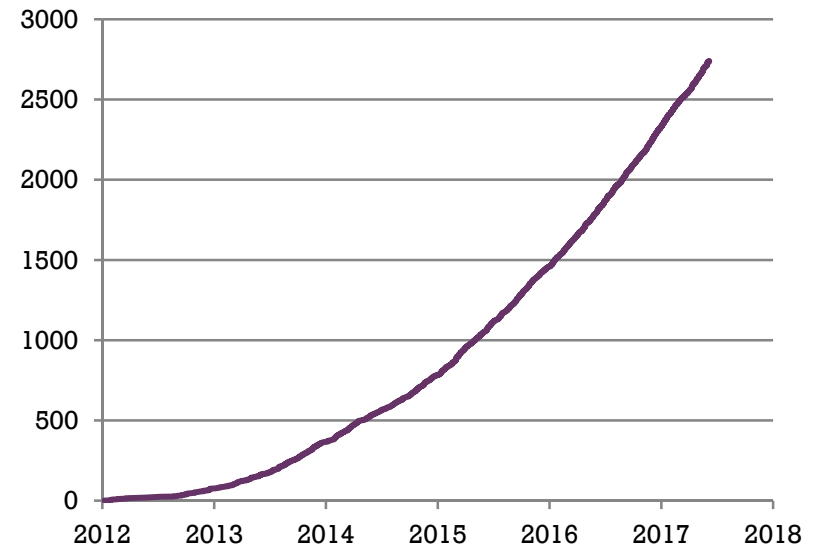
Mode opératoire

- Préanalytique
- Analytique



## Activité depuis 2012

- Projection à 400 tests par an en 2012
- 1000 dossiers par an en 2016-2017
- Clientèle adulte puis pédiatrique
- Démarrage en test unitaire
- Accélération en test Elisa
- Stabilisation en immunodosage automatisé



2014

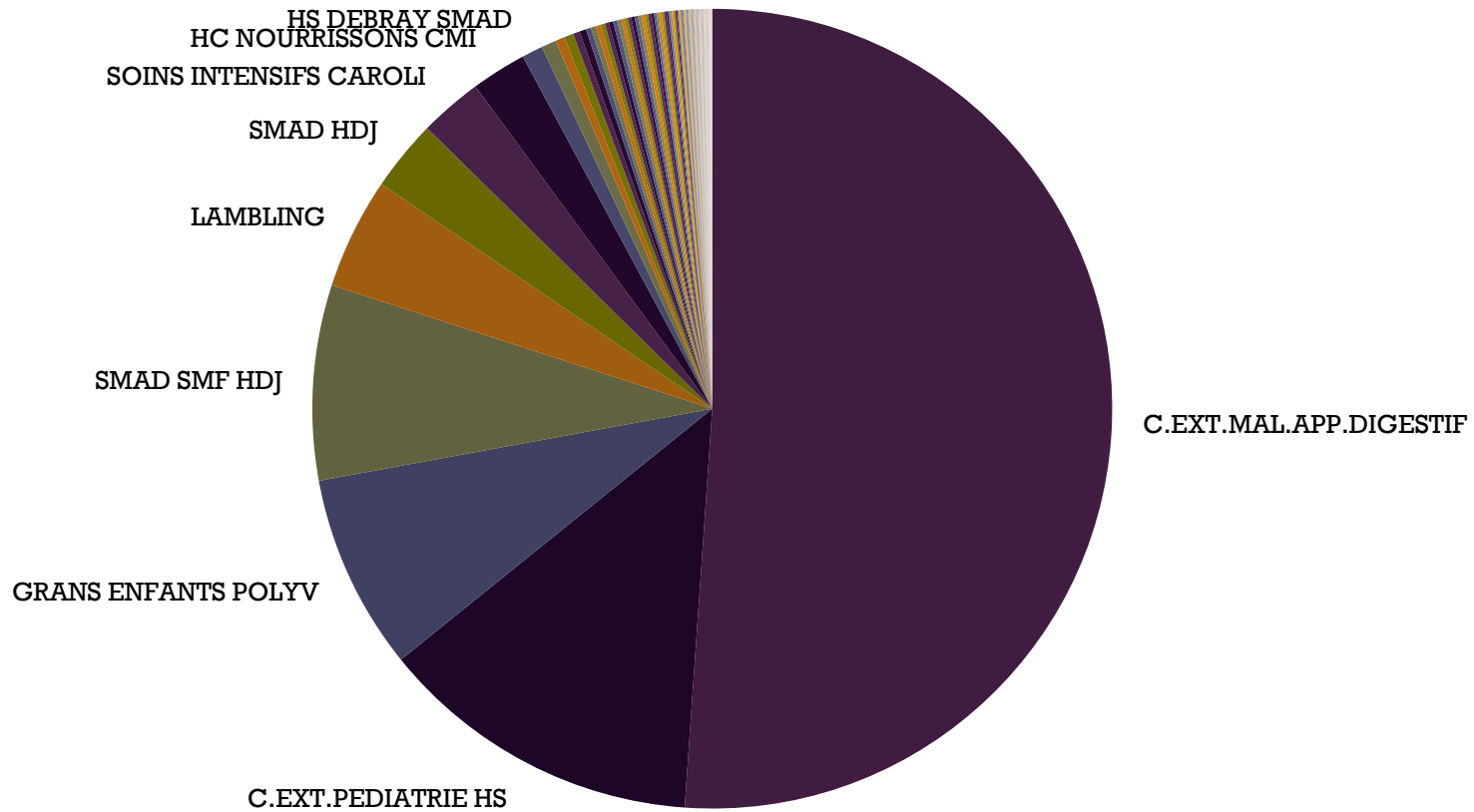


2016





# Prescripteurs



- 75% services Gastro d'adultes et 25 % de gastro-pédiatres
- Peu de demandes à l'extérieur (pb de facturation des BHN)



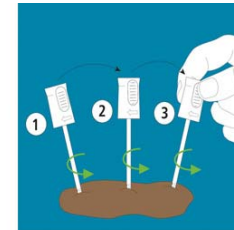
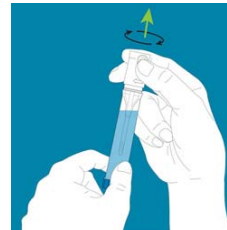
## Mise en place de suivis

Nombre patients	Nbre dosages par patient	Dosages totaux
836	1	836
259	2	518
144	3	432
92	4	368
40	5	200
24	6	144
22	7	154
5	8	40
8	9	72
4	10	40
2	11	22
3	13	39
3	14	42
1	18	18
1	30	30
<b>1444</b>		<b>2955</b>

- 43% des patients ont eu au moins 2 dosages dans le cadre d'un suivi
- 57% des patients ont juste un dépistage de MICI
- Au total 72% des dosages sont des suivis
- Pas d'indicateur sur l'impact en endoscopie au CHU

## Mode opératoire

- Réception et phase préanalytique au fil de l'eau :
  - Enregistrement (dépistage ou suivi)
  - Préparation en cupule calibrée et congélation
  - Utilisation d'un système polyvalent Bühlmann Smart-Prep en alternative aux systèmes « rapides » (non compatibles : selles liquides et solides)



## Mode opératoire

- « pesée » à réception 84mg +/- 6



Puis congélation  
jusqu'à analyse



## Mode opératoire

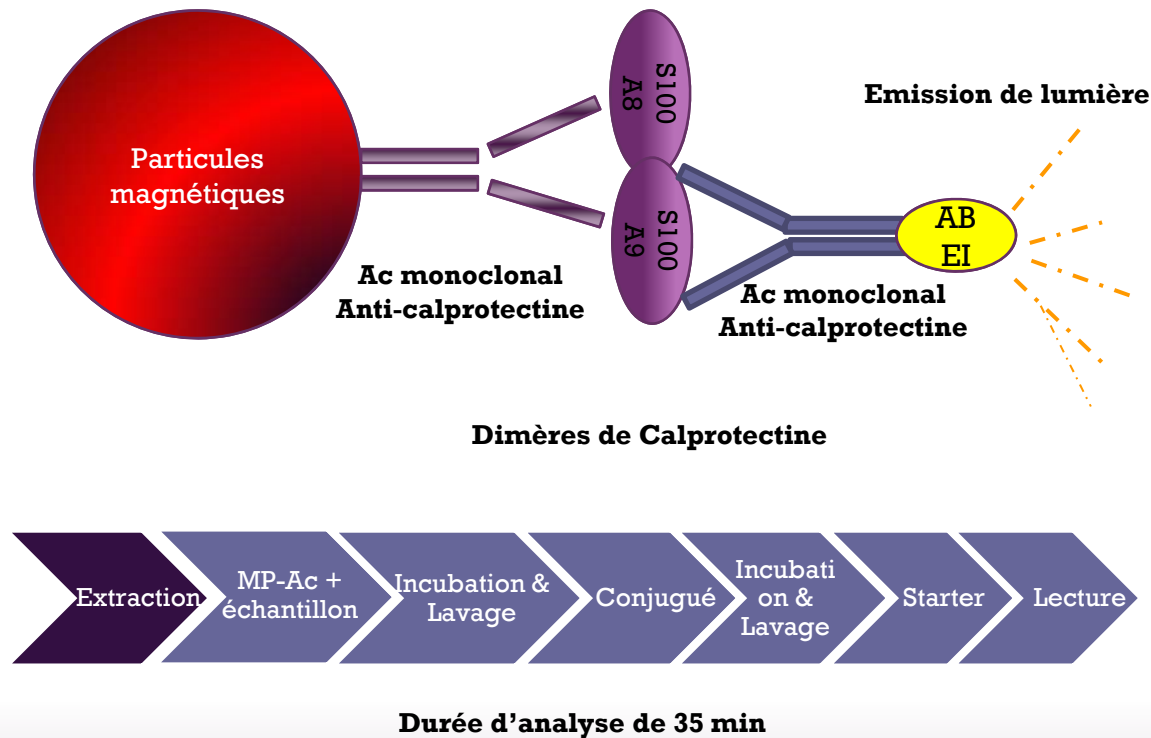
- Extraction dans le tampon fournisseur 4,14ml
- Vortex 30 minutes
- Transfert en tube à hémolyse
- Centrifugation et récupération du surnageant
- Dilution 1/9,5 et analyse sur automate Diasorin LiaisonXL





# Méthode Diasorin

## Sandwich quantitatif

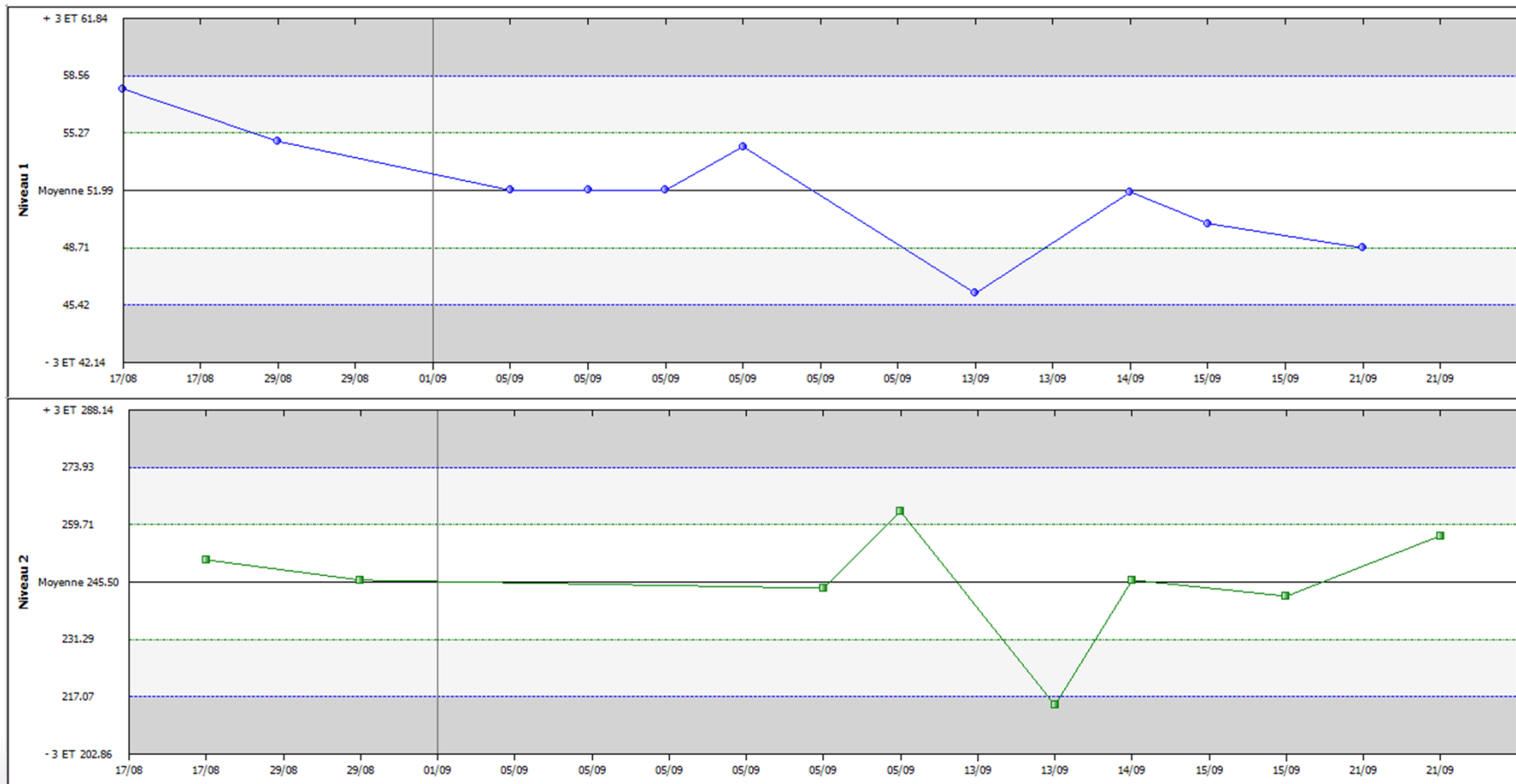


<b>Format du test</b>	<b>Sandwich</b>
<b>Méthode</b>	Quantitative
<b>Phase solide</b>	Ac anti hétérocomplexe de calprotectine
<b>Conjugué</b>	Ac anti sous-unité S100A9
<b>Volume échantillon</b>	50-100 mg
<b>Type d'échantillon</b>	Selles
<b>Nombre d'incubations</b>	2
<b>Cadence</b>	90 tests/heure
<b>1° résultat disponible</b>	35 minutes
<b>Conditionnement</b>	100 tests
<b>Interprétation</b>	Neg ≤ 50µg/g Pos > 50µg/g
<b>Domaine de mesure</b>	5-800µg/g
<b>Dilution</b>	1/10è (automatique)



# Contrôle Interne de Qualité

## contrôle liquide fabricant prêt à l'emploi



# EEQ labquality 2016 n° 4

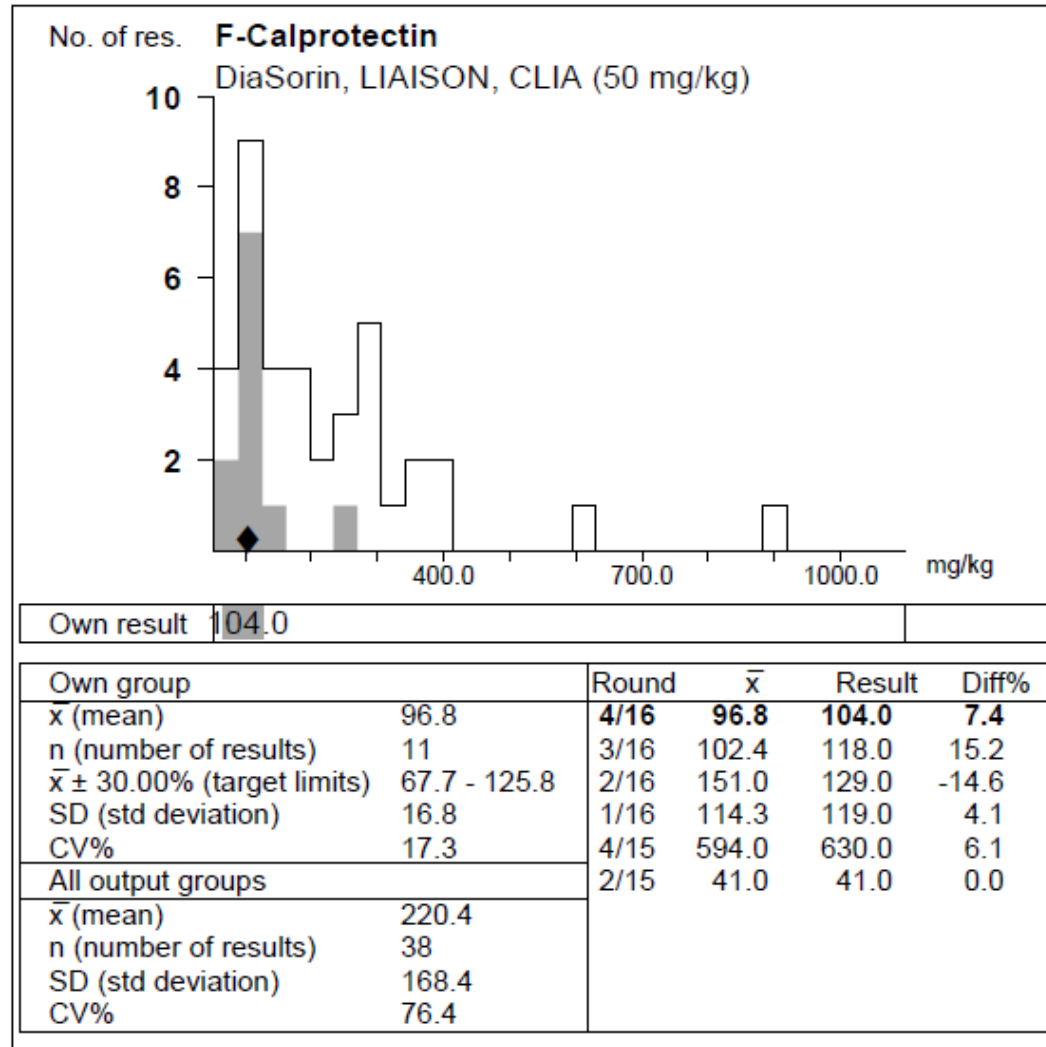
Selle lyophilisée à reprendre

1ère Idée de la non-standardisation à ce jour

Output group	$\bar{x}$	SD	CV%	Results
BIOHIT Calprotectin Elisa (50 mg/kg)	132.0	-	-	1
Bühlmann Quantum Blue fCAL (50 mg/kg)	170.0	62.6	36.8	4
Bühlmann fCAL ELISA (50 mg/kg)	385.0	-	-	1
Bühlmann fCAL turbo (50 mg/kg)	210.3	74.2	35.3	3
CALPRO, Calprotectin Elisa (ALP) (50 mg/kg)	192.0	-	-	1
DiaSorin, LIAISON, CLIA (50 mg/kg)	96.8	16.8	17.3	11
EUROIMMUN, ELISA (50 mg/kg)	387.4	-	-	1
Eurospital, CalFast, ELISA (70 mg/kg)	72.0	-	-	1
Eurospital, Calprest, ELISA (50 mg/kg)	60.0	-	-	1
Immundiagnostik, PhiCal Elisa (50 mg/kg)	146.9	58.1	39.6	2
ORGENTEC, ELISA (50 mg/kg)	769.4	205.8	26.7	2
R-Biopharm, Ridascreen (50 mg/kg)	312.5	47.4	15.2	2
Thermo Fisher, Phadia Elia (50 mg/kg)	294.0	-	-	1
Thermo Fisher, Phadia Elia 2 (50 mg/kg)	270.7	55.9	20.6	7
<b>All output groups</b>	<b>220.4</b>	<b>168.4</b>	<b>76.4</b>	<b>38</b>



# EEQ labquality 2016 n° 4 corrélation/suivi

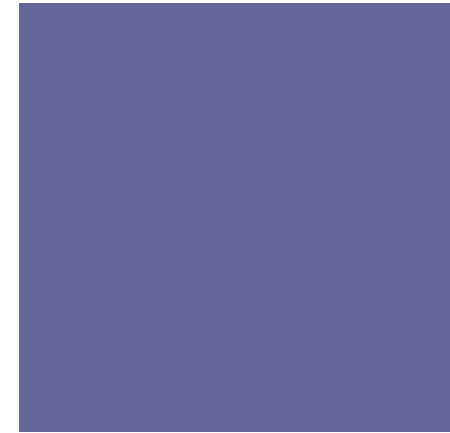




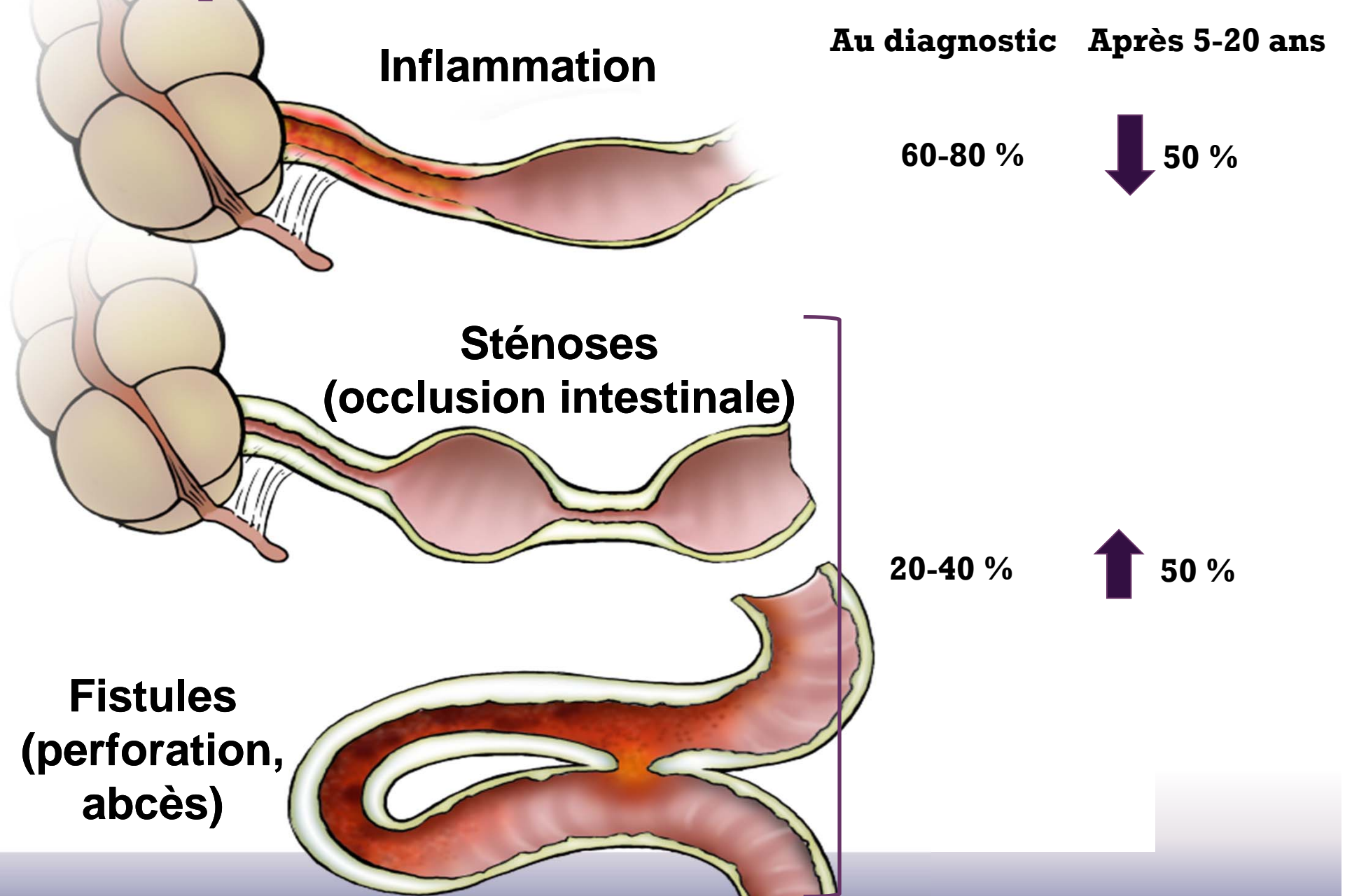
## Prise en charge

- 1 série par semaine (15 jours tolérés)
- Acte actuellement présent dans la liste complémentaire
  - L087 à BHN160 soit 43,2€
  - CERBA 62€
  - Non remboursable
  - Difficilement refacturable pour les laboratoires des CHU selon les politiques d'établissement
- Nombreux travaux en cours pour permettre le passage à la NABM
- Les difficultés sur la standardisation n'aident pas (débat sur les seuils) pour un paramètre destiné au suivi au long cours

# Les différentes situations d'application clinique

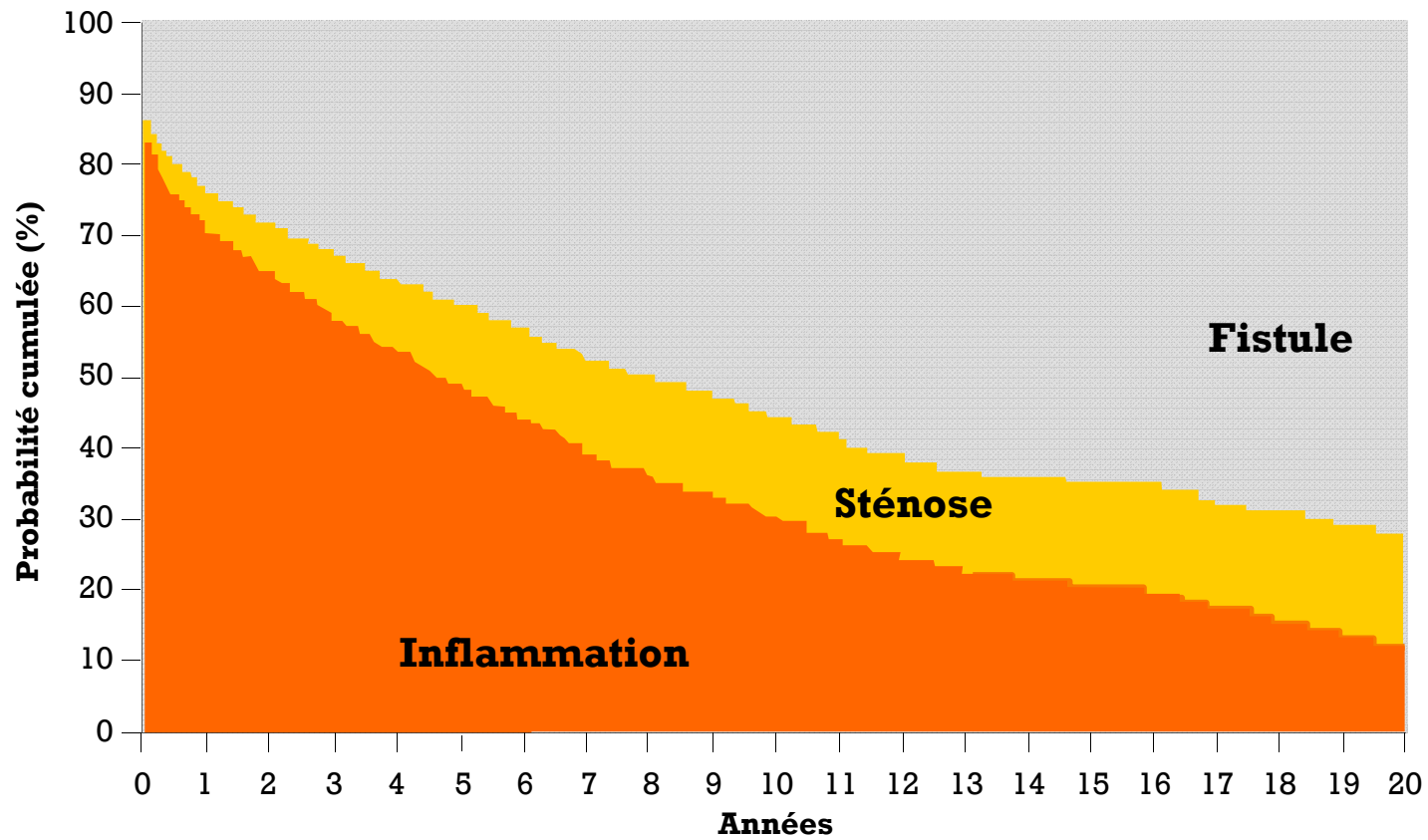


# 🌀 Complications évolutives intestinales





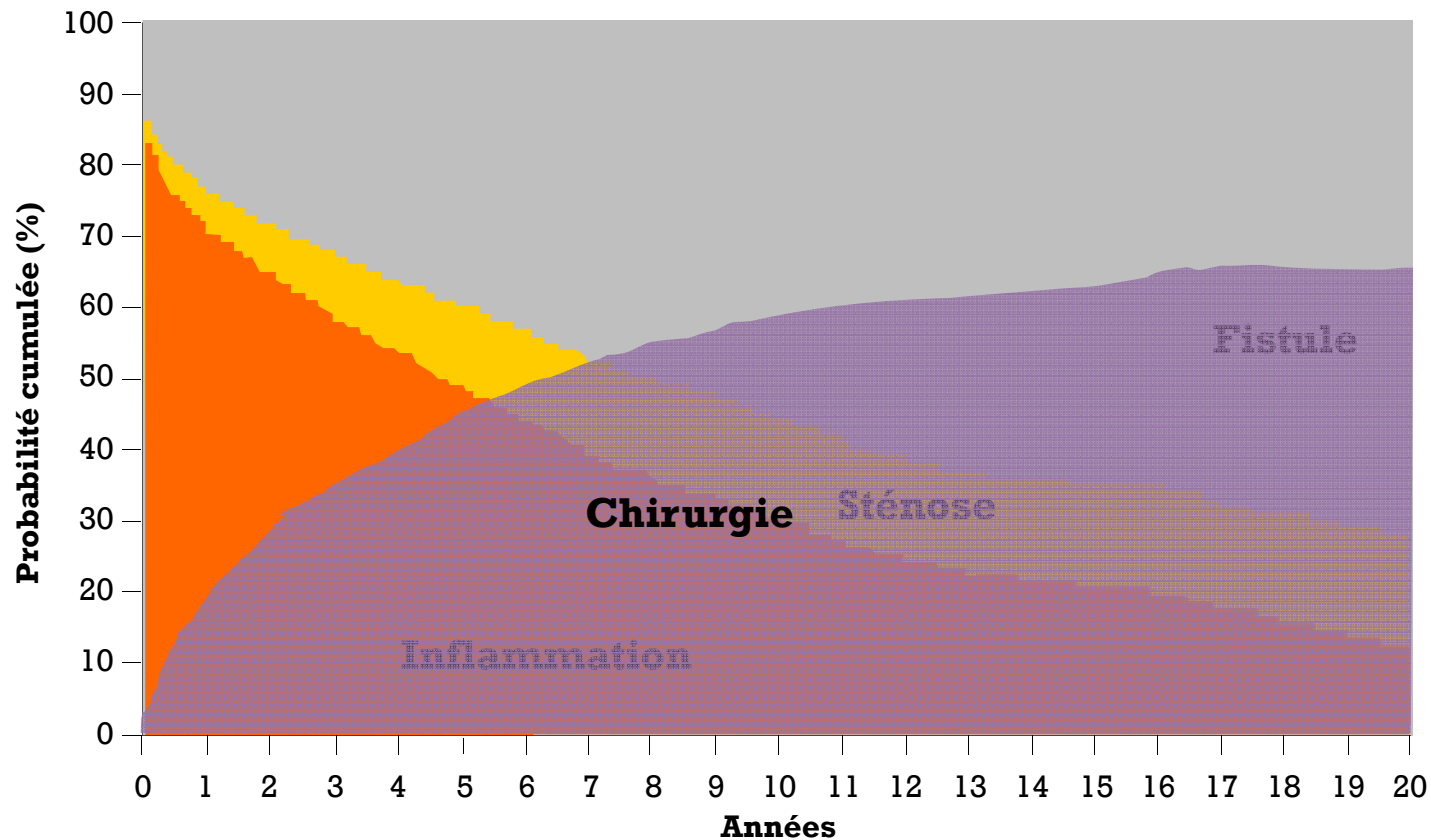
# Histoire naturelle de la maladie de Crohn



Patients

N = 2002                      552                      229                      95                      37

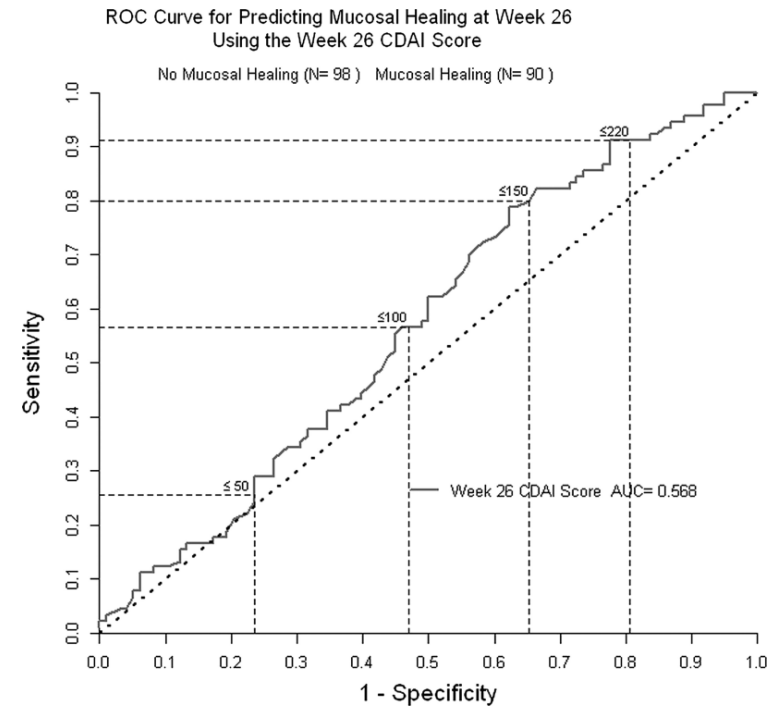
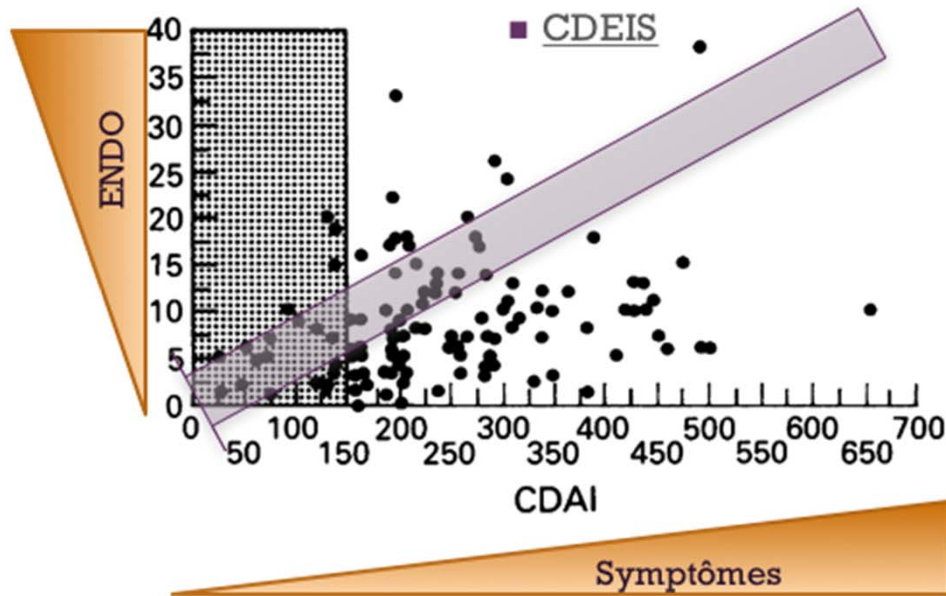
# Histoire naturelle de la maladie de Crohn



Patients

N =	2002	552	229	95	37
-----	------	-----	-----	----	----

# Une absence de corrélation inflammation muqueuse/symptômes



# 🌀 Quels objectifs thérapeutiques en 2015 ?

En transition ...

ACTUELS

## CLINIQUE

- Rémission clinique durable
- Sans corticoïde

## CICATRISATION MUQUEUSE

- Rémission sans stéroïdes
- Hospitalisations
- Chirurgie
- Qualité de vie

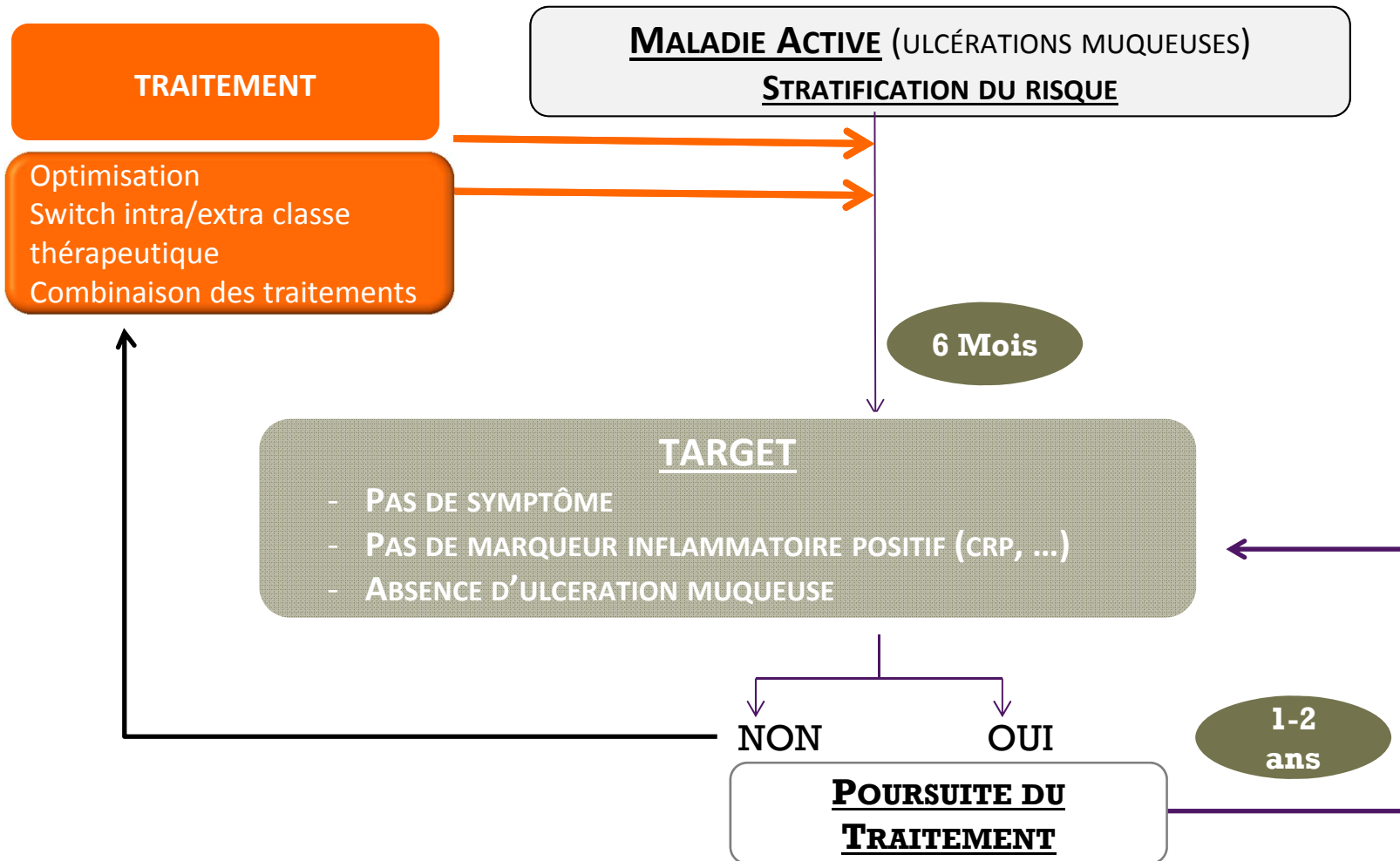
## FUTUR PROCHE

- Destruction intestinale
- Incapacité
- Rémission profonde

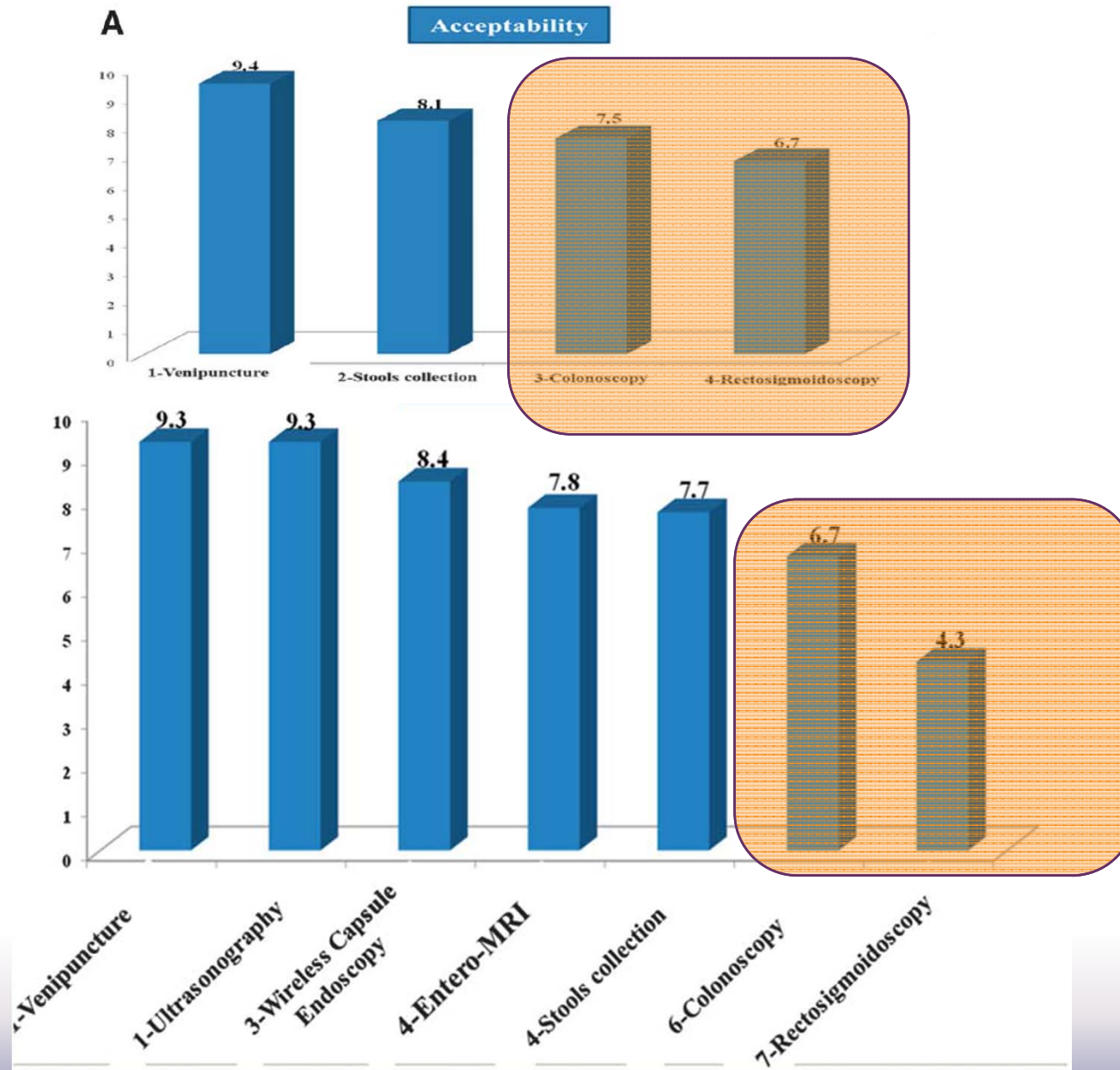
## Cicatrisation muqueuse et devenir de la MC

- Associée à une diminution de l'activité clinique de la maladie (rechute)
- Associée à une diminution du recours aux hospitalisations
- Associée à une diminution du risque de complications de la maladie (fistules)
- Associée à une diminution du recours à la chirurgie
- Associée à une diminution du recours aux corticoïdes

# Au total...



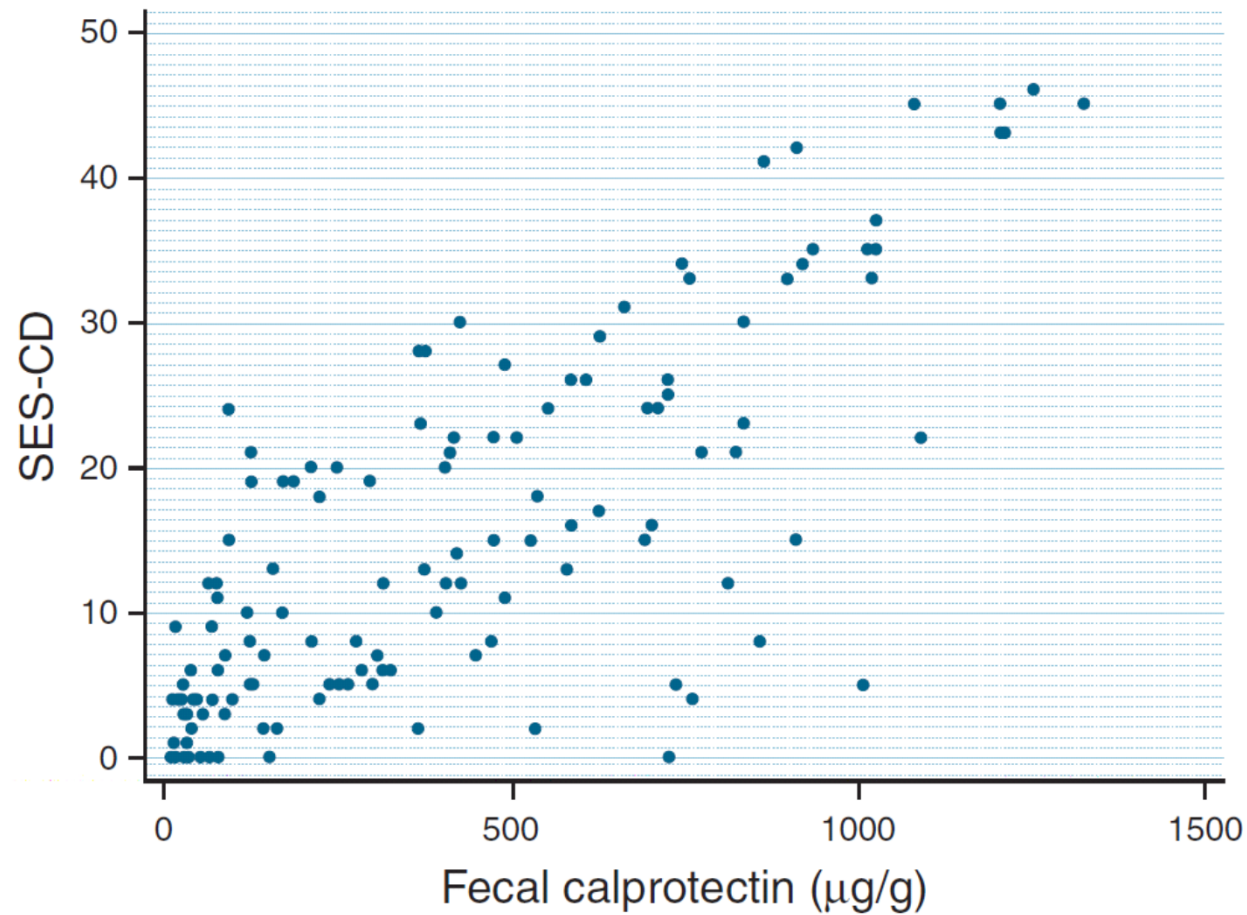
# Une stratégie acceptée par le patient ?



# Corrélation endoscopie et calprotectine

Crohn, n=140; Controls, n=43

Spearman's rank correlation coefficient  $r = 0.75$ ,  $P < 0.001$

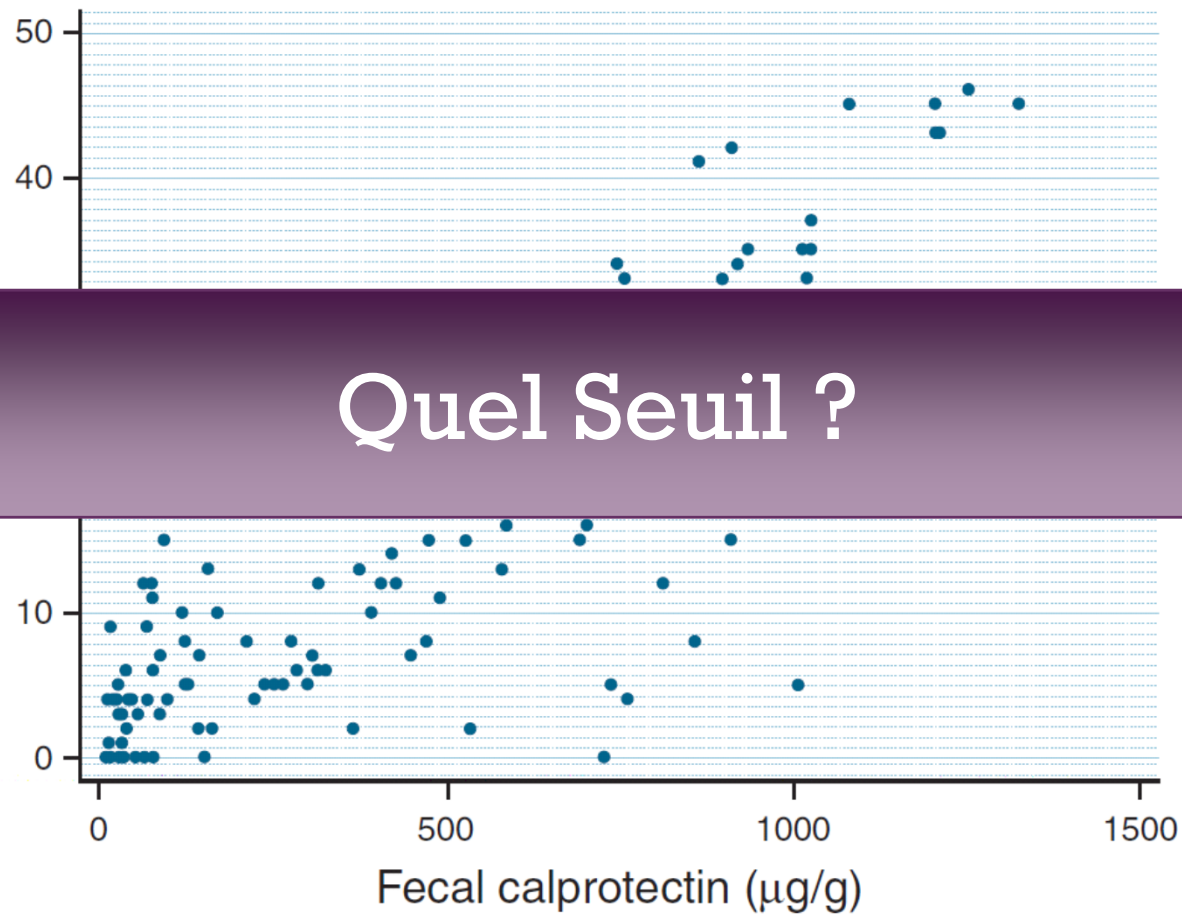




# Corrélation endoscopie et calprotectine

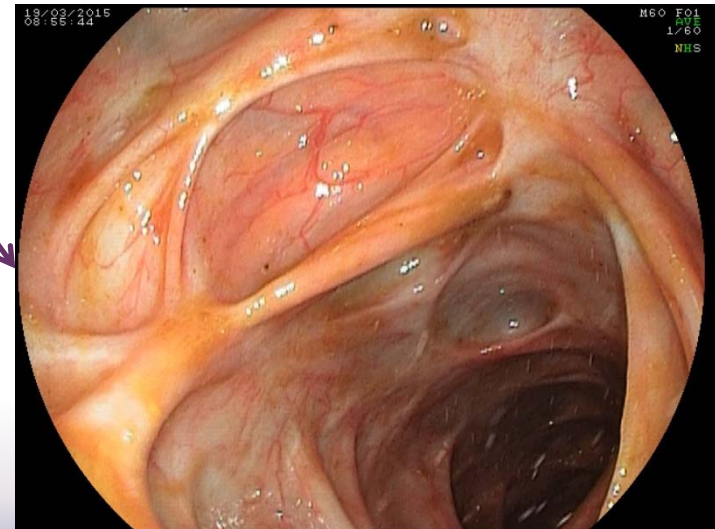
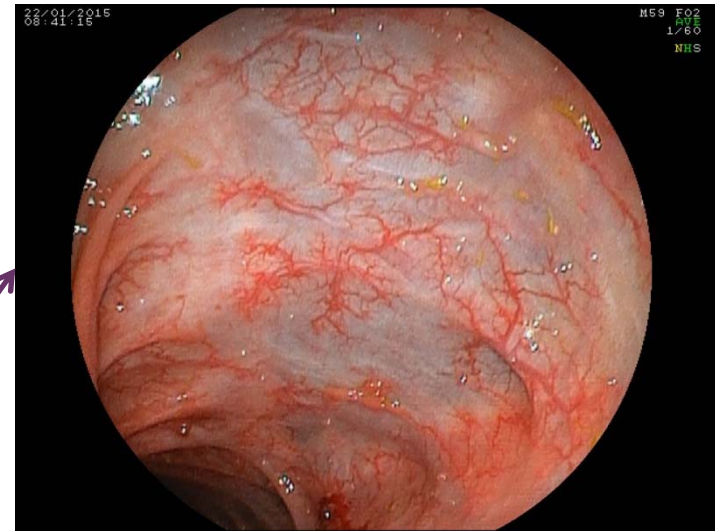
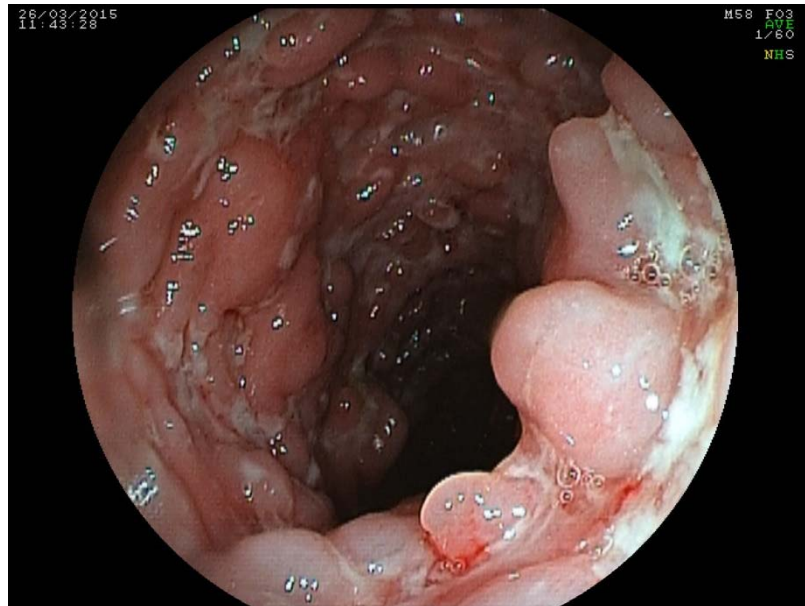
Crohn, n=140; Controls, n=43

Spearman's rank correlation coefficient  $r = 0.75$ ,  $P < 0.001$



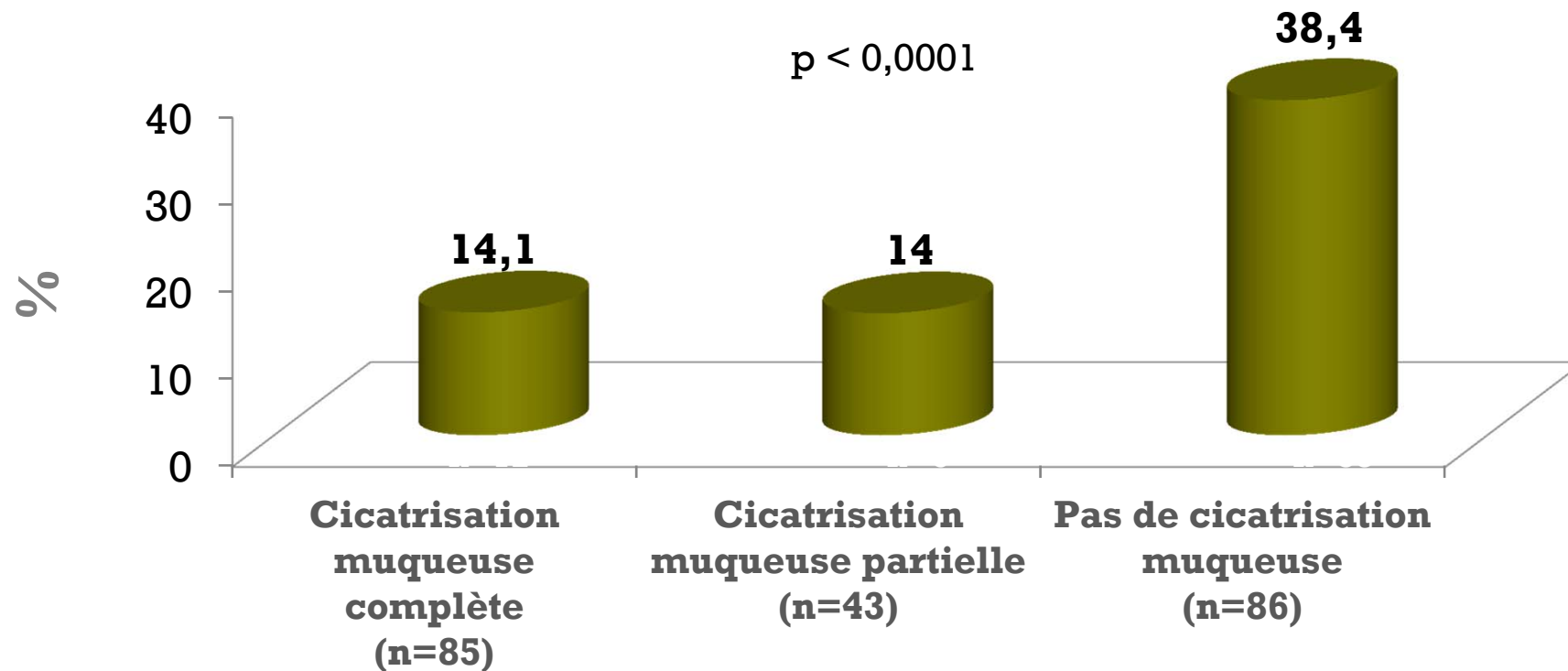
# 🌀 Quel définition à la cicatrisation muqueuse ?

Absence d'ulcération



# 🌀 Cicatrisation muqueuse complète ou partielle ?

Etude monocentrique rétrospective sur le devenir de 214 patients traités par infliximab.  
Recours à la chirurgie selon l'évolution endoscopique



Evaluation après traitement par IFX : médiane de 6,7 mois (IQR 1.4-24.6)

## Prédire l'activité muqueuse (CDEIS > 3)

Une sensibilité insuffisante ?

	sensitivity %	specificity %	PP value %	NP value %
CDAI $\geq$ 150	27	94	91	40
CRP $\geq$ 5mg/L	48	91	91	48
calprotectin $\geq$ 200 $\mu$ g/g	70	92	94	61

correlations CDEIS/CDAI :  $r=0.38$ , CDEIS/calpro :  $r=0.73$

# Calprotectine fécale pour le suivi post-opératoire

## Intérêt dans la VPN ?

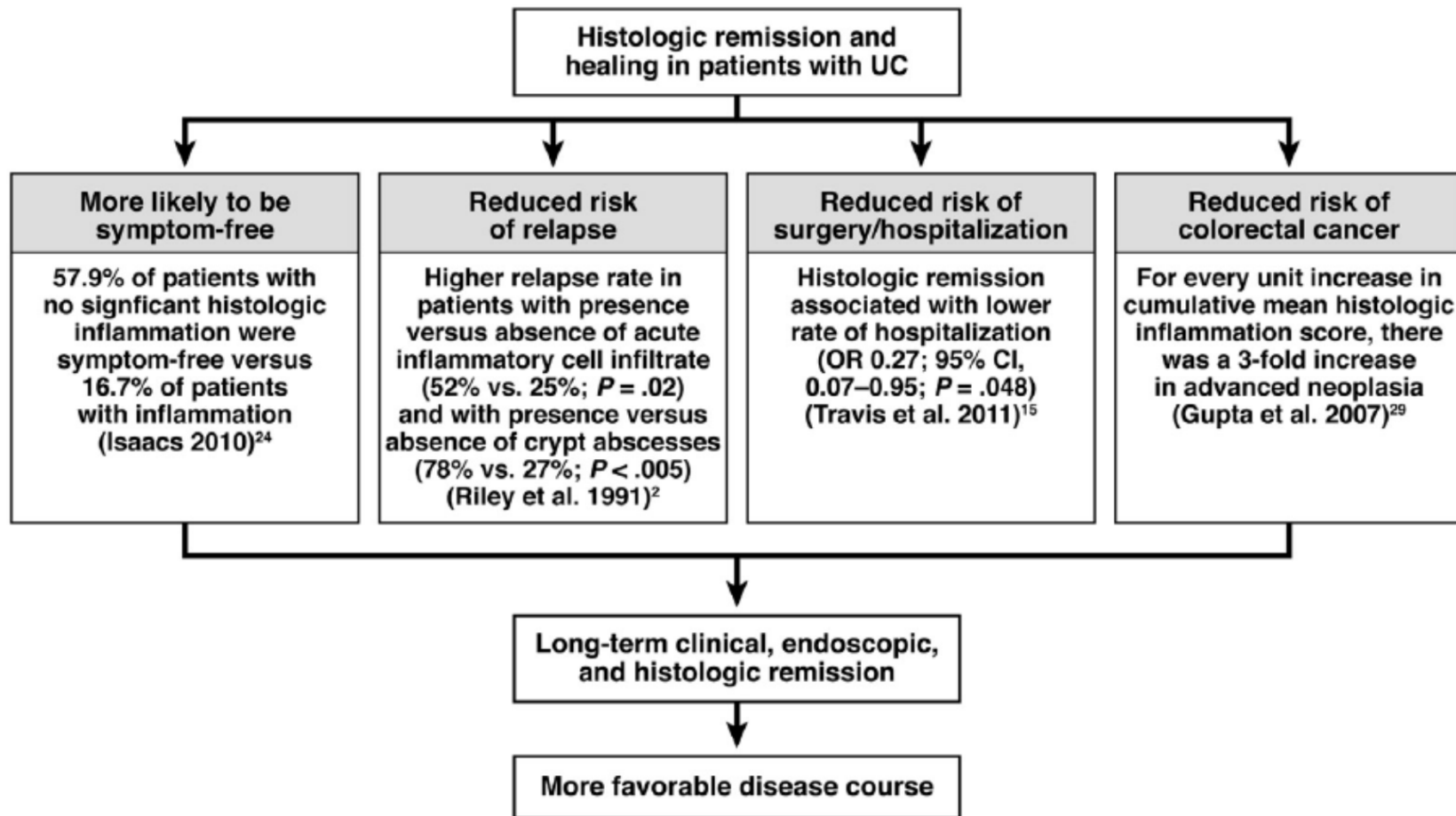
86 patients suivis prospectivement

Calprotectine fécale et endoscopie dans les 18 mois

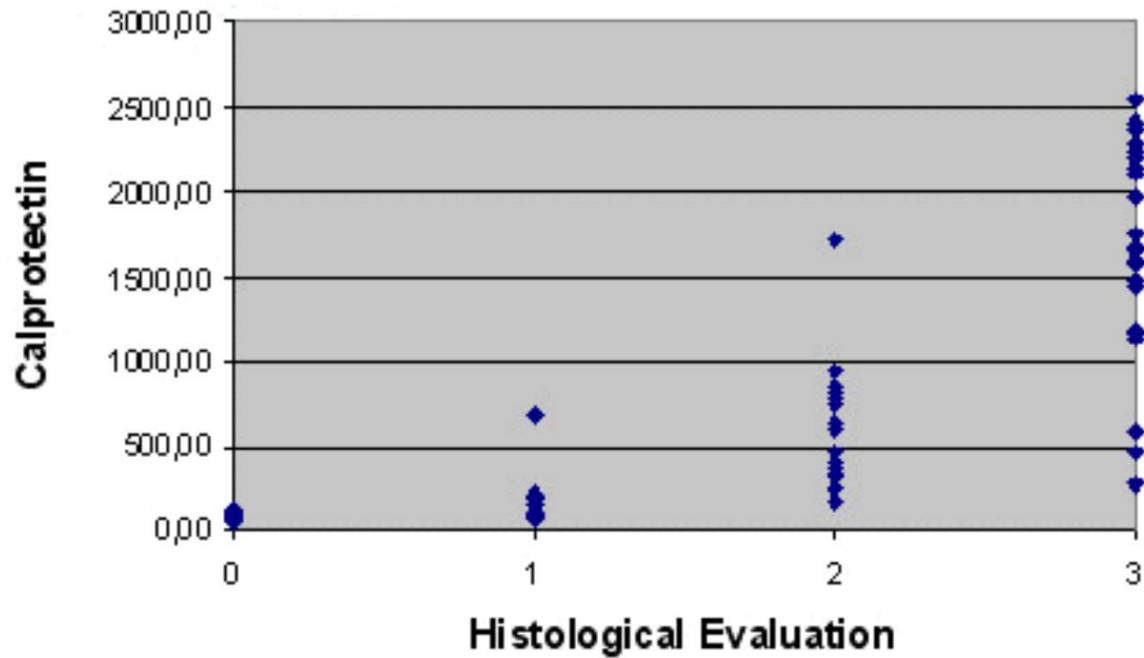
Récidive endoscopique si Score de Rutgeerts > i2

<b>fCal in <math>\mu\text{g/g}</math> cutoff</b>	<b>Sen (%)</b>	<b>Spe (%)</b>	<b>PPV (%)</b>	<b>NPV (%)</b>	<b>OA</b>
50	98	33	60	94	66
100	95	54	69	93	77
150	77	82	81	78	79
250	52	91	85	65	71

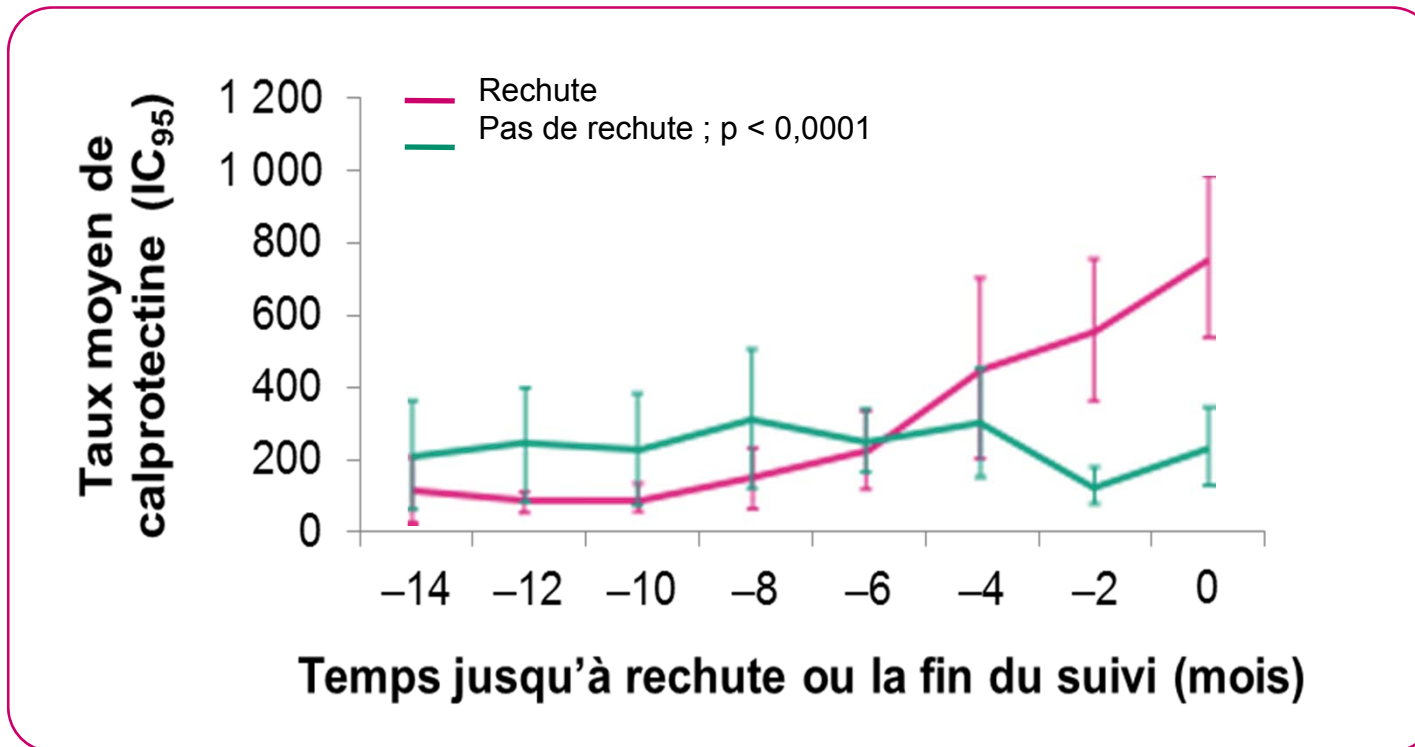
## Intérêt de la rémission histologique ? (RCH)



# Peut-on s'aider de la calprotectine pour prédire l'histologie ?



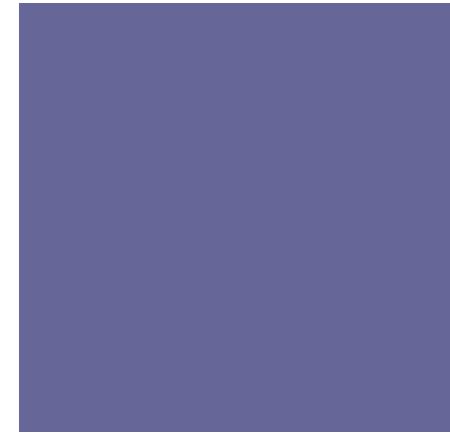
## Prédire la rechute ?...



- Prédiction de la rechute clinique
  - calprotectine  $> 305$  mg/g : sensibilité : 70 % ; spécificité : 74 %
  - CRP  $> 6,1$  mg/l : sensibilité : 70 % ; spécificité : 66 %



# Les méthodes d'analyse



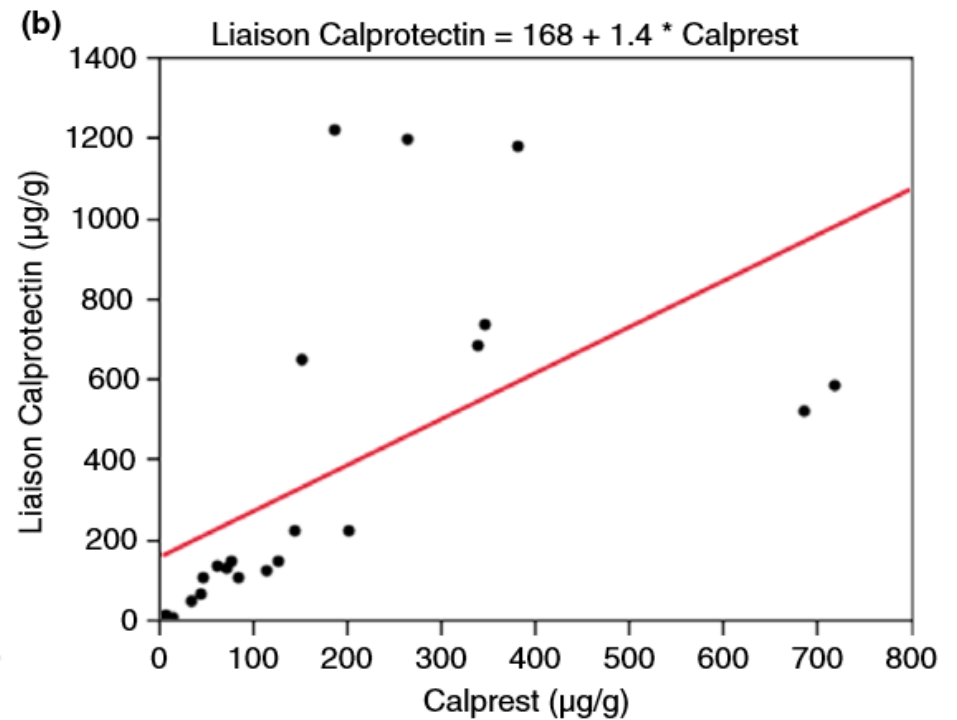
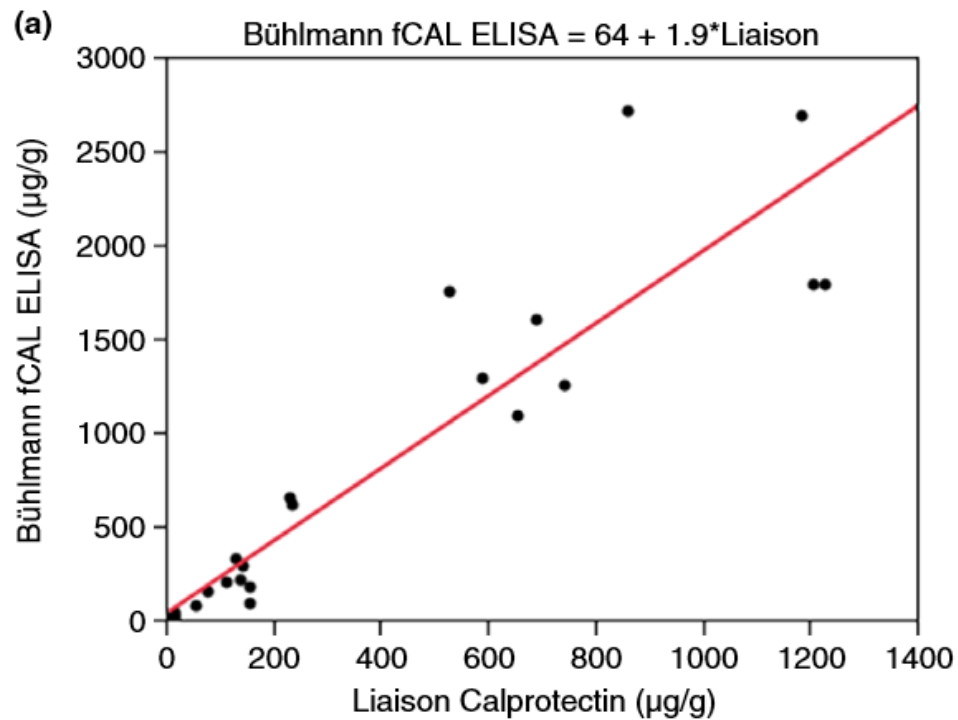


## Variété des fournisseurs

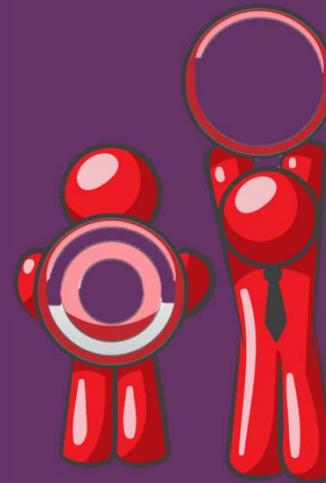
Test	Fabricant	Méthode	Type d'anticorps	Gamme de mesure (µg/g)
Certest	Biotec	Immuno-chromatographie semi-quantitative	Monoclonal	50-200
Calprotectin Quantum Blue	Bühlmann	Immuno-chromatographie quantitative	Monoclonal	30-1 800
Calprotectin	Bühlmann	ELISA	Monoclonal	30-1 800
Calprolab	Calpro	ELISA	Polyclonal, monoclonal	25-2 500
Liaison et Liaison XL Calprotectin	Diasorin	Dosage immunologique avec détection en chimioluminescence	Monoclonal	5-800
Calprest et Calprest NG	Eurospital	ELISA	Polyclonal, monoclonal	15-500 15-3 000
Calfast	Eurospital	Immuno-chromatographie quantitative	Polyclonal, monoclonal	50-300
IDK Calpro	Immundiagnostik	ELISA	Monoclonal	60-250
Inova Quanta Flash Calprotectin	Innova Diagnostics	Dosage immunologique avec détection en chimioluminescence	Polyclonal, monoclonal	16-3 500
Orgentec Calprotectin	Orgentec	ELISA	Polyclonal	0-1 000
Ridascreen Calprotectin	R-Biopharm	ELISA	Monoclonal	20-800
Calprotectin 2 EliA	Thermo Fisher Scientific	Dosage immunologique avec détection en fluorescence	Monoclonal	15-3 000



# corrélations entre trois tests



+ Synthèse  
&  
Conclusion



## Conclusion

- Le point de vue du biologiste
  - L'automatisation des méthodes autorise une utilisation à grande échelle
  - Bonne reproductibilité malgré une matrice hétérogène
  - CIQ et EEQ disponibles
  - Les écueils principaux
    - **Défaut de standardisation**
    - **Absence de remboursement**
  
- Le point de vue du clinicien
  - Paramètre adapté au dépistage et au suivi des MICI
    - Diminution du recours aux endoscopies
    - Amélioration de l'observance et du suivi des patients
  - Utilisation pour le moment binaire inflammation/cicatrisation
  - Remboursement toujours en attente