

« Évaluation de la variabilité intra- et interindividuelle de la calprotectine fécale au sein d'une cohorte de patients souffrant de maladie inflammatoire chronique des intestins: un étude prospective monocentrique. »

Jade Ku

*Clinique d'Immunobiologie
Clinique de Gastroentérologie
Hôpital Erasme
Université Libre de Bruxelles*

Introduction

Calprotectine = « calcium binding protein »

- Protéine cytoplasmique
- Lignée myéloïde (PNN, monocytes, macrophages)
- Marqueur d'inflammation (fluides biologiques)

Introduction

Dosage:

- Immuno-enzymatique
- Immunochromatographique
- Stable dans les selles
- (Probablement) peu de variabilité à quelques jours d'intervalle
- Variabilité en fonction de la pathologie, de la localisation et de l'activité inflammatoire des maladies inflammatoires chroniques des intestins (MICI) (atteinte colique +++)

Buts de notre étude :

- Évaluer la variabilité interindividuelle
- Évaluer la variabilité intra-individuelle
- Évaluer la variabilité intra-selles
- Comparer les tests ELIA Calpro 1 (première génération) et Calpro 2 (deuxième génération) de Thermofisher

Méthodologie

- Etude prospective monocentrique observationnelle de type cas-contrôle
- Approbation du comité d'éthique
- 122 patients recrutés = 113 MICI + 9 syndrome de l'intestin irritable (SII)

Méthodologie

Collecte des prélèvements:



Mesures de CF:

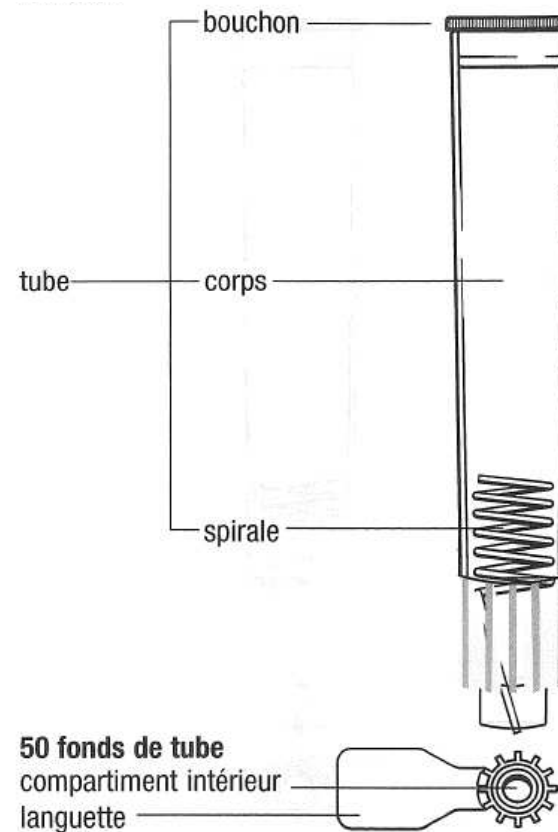
- Selles J0: 3 punchs de 100mg + 1 homogénat de 5-8g
- Selles J1 à 5: 1 homogénat de 5-8g

Méthodologie – Extraction de la calprotectine

1) PUNCHS

Extraction à partir de
3 punchs de +/- 100 mg
avec le « Faecal sample
preparation kit de Roche »

Volume de tampon
d'extraction adapté au poids
des selles => rapport
poids/volume constant



=> Puis quantification de la calprotectine sur Phadia Unicap 250. Tests ELIA calprotectine 1 et 2.

Méthodologie – Extraction de la calprotectine

2) HOMOGENATS

Extraction à partir de 5 à 8 g de selles à l'aide du IKA® ULTRA-TURRAX® TUBE DRIVE CONTROL. Volume de tampon d'extraction adapté au poids des selles
=> rapport poids/volume constant



=> Puis quantification de la calprotectine sur Phadia Unicap 250. Tests ELIA calprotectine 1 et 2.

Buts de notre étude :

- Évaluer la variabilité interindividuelle

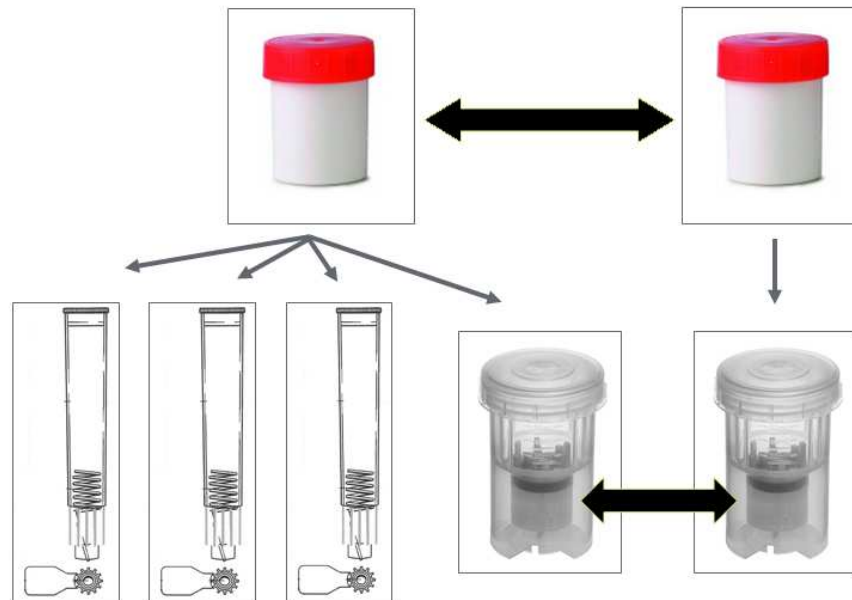
En fonction

- du type de pathologie
- de la localisation
- de l'activité inflammatoire

122 patients recrutés
113 patients MICI
78 MC
35 RCUH
9 SII

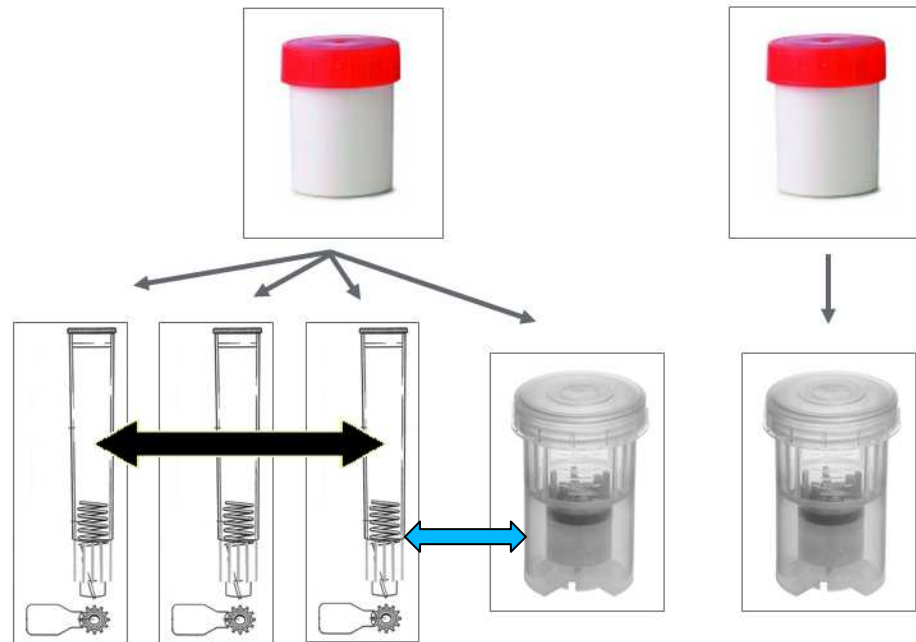
Buts de notre étude :

- Évaluer la variabilité interindividuelle
- Évaluer la variabilité intra-individuelle



Buts de notre étude :

- Évaluer la variabilité interindividuelle
- Évaluer la variabilité intra-individuelle
- Évaluer la variabilité intra-selles



Buts de notre étude :

- Évaluer la variabilité interindividuelle
- Évaluer la variabilité intra-individuelle
- Évaluer la variabilité intra-selles

Dosage standard: 100 mg

Taille d'un petit pois sur une selles de 200g = 0,05% de la selle totale

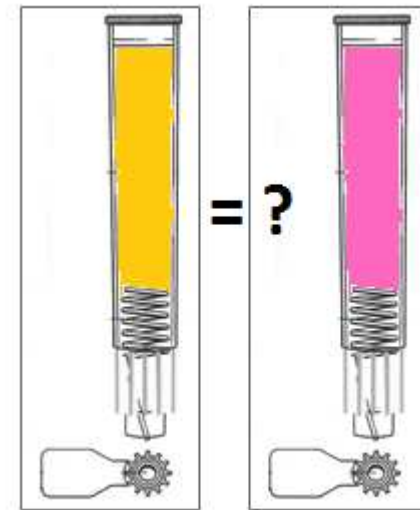
A-t-on un bénéfice à analyser de plus grande quantité de selles?

A-t-on un bénéfice à homogénéiser l'échantillon avant extraction?

-> Homogénat = 5-8g de selles

Buts de notre étude :

- Évaluer la variabilité interindividuelle
- Évaluer la variabilité intra-individuelle
- Évaluer la variabilité intra-selles
- Comparer les tests ELIA Calpro 1 et Calpro 2 (Thermofisher)



Résultats

Population

	Crohn (%)		RCUH (%)		SII (%)	Total (%)
<u>N</u>	78 (64)		35 (27)		9 (7)	122 (100)
<u>Sexe</u>						
♂	27 (35)		14 (40)		3 (33)	44 (36)
♀	51 (65)		21 (60)		6 (67)	78 (64)
<u>Age</u>	41±16		43±14		36±16	41±15
<u>Tabac</u>	28 (36)		4 (11)		2 (22)	34 (28)
Oui	50 (64)		31 (89)		7 (78)	88 (72)
Non						
<u>Localisation</u>	Iléale N =24	Iléo- colique ou colique N= 54	Gauche	Pancolique	X	X
<u>Activité</u>						
Actif	10 (13)	31 (40)	12 (34)	12 (34)	X	113 (100)
Quiescent	14 (18)	23 (29)	6 (17)	5 (15)		
						48 (47)

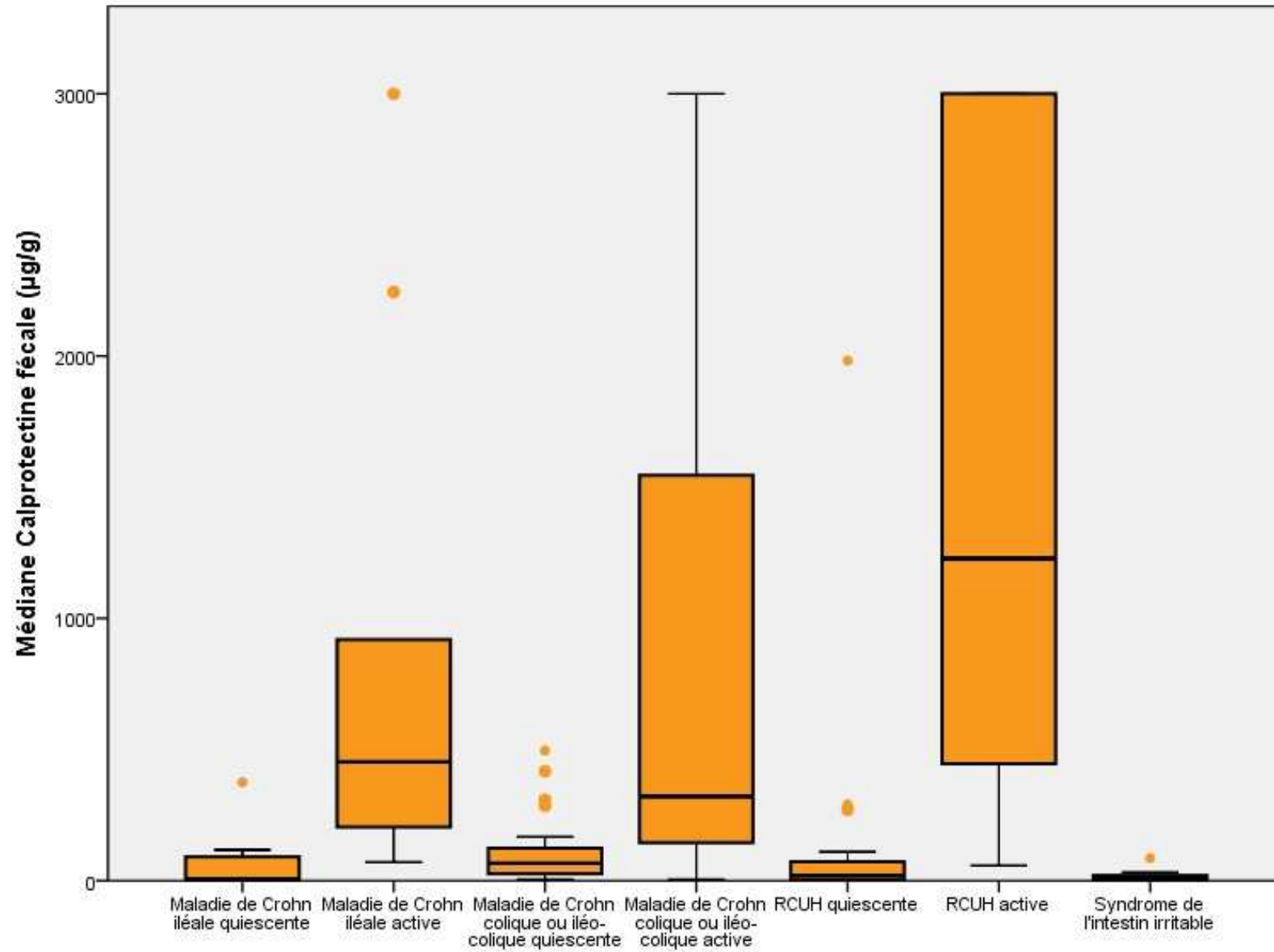
Résultats

Calpro 1

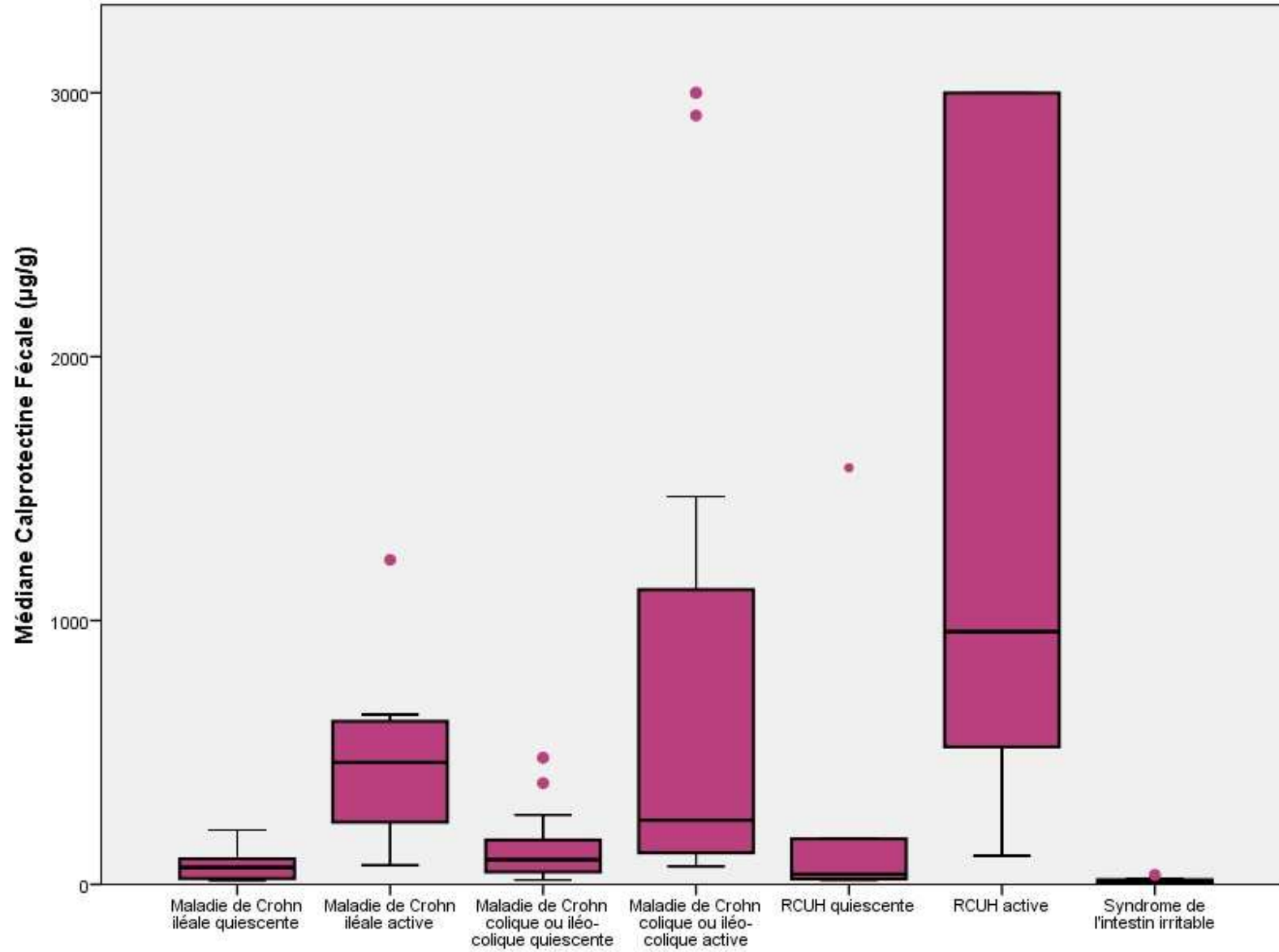
Variabilité interindividuelle

	n	Médiane CF($\mu\text{g/g}$)	Intervalles	P Mann-Whitney U test
MC iléale quiescente	14	5	[5, 375]	< 0,05
MC iléale active	10	453	[71, 3000]	
MC colique ou iléo- colique quiescente	26	66	[5, 496]	< 0,01
MC colique ou iléo- colique active	35	321	[5, 3000]	
RCUH quiescente	15	21	[5,1983]	< 0,01
RCUH active	30	1228	[58, 3000]	
Syndrome de l'intestin irritable	10	5	[5, 86]	< 0,01
Total	140	126	[5, 3000]	

Variabilité interindividuelle Calpro 1



Variabilité interindividuelle Calpro 2



Résultats

Calpro 1

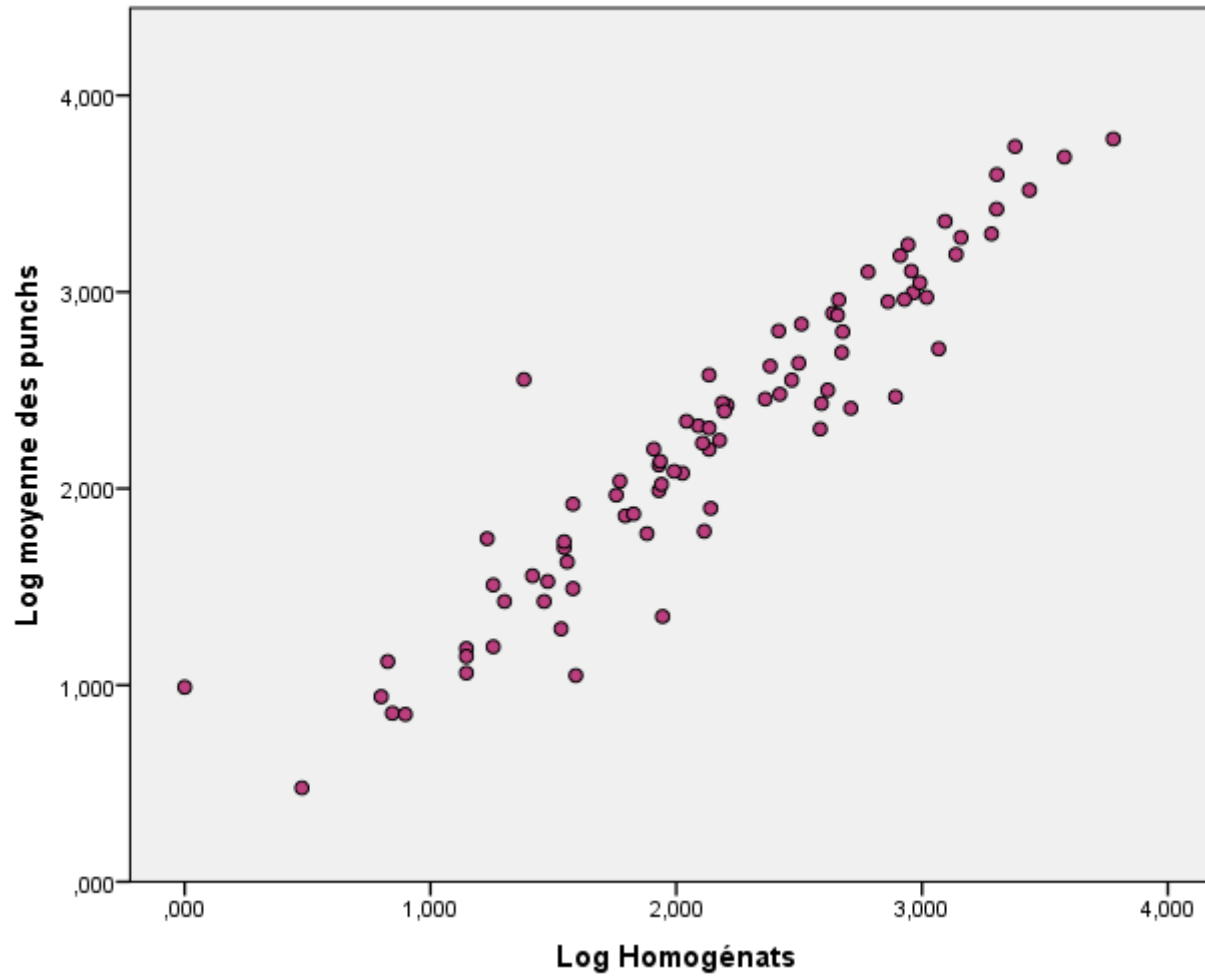
Variabilité intra-individuelle

	n	CF médiane (µg/g) Jour 0 [intervalle]	CF médiane (µg/g) Jour 1 à 5 [intervalle]	Median Cv (%) [range]	Corrélation Spearman	P Wilcoxon test
MC iléale quiescente	13	5 [5-375]	24 [5-144]	79,93 [0-124,78]	0,568	0,929
MC iléale active	10	453 [71-300]	328 [43-2248]	26,75 [0,13-99,16]	0,733	0,057
MC colique ou iléocolique quiescente	21	84 [5-496]	91 [5-641]	39,50 [0-97,14]	0,763	0,059
MC colique ou iléocolique active	31	292 [5-3000]	273 [40-3000]	32,25 [0-119,66]	0,711	0,478
RCUH quiescente	13	20 [5-1983]	32 [5-836]	46 [0-134,49]	0,660	0,515
RCUH active	22	1395 [58-3000]	1200 [64-3000]	36,93 [0-133,23]	0,773	0,535
Syndrome de l'intestin irritable	10	5 [5-86]	5	0 [0-125,88]	1	0,109
Total	120	128 [5-3000]	136 [5-3000]	31,34 [134,49]	0,889	0,152

Calpro 1

Résultats

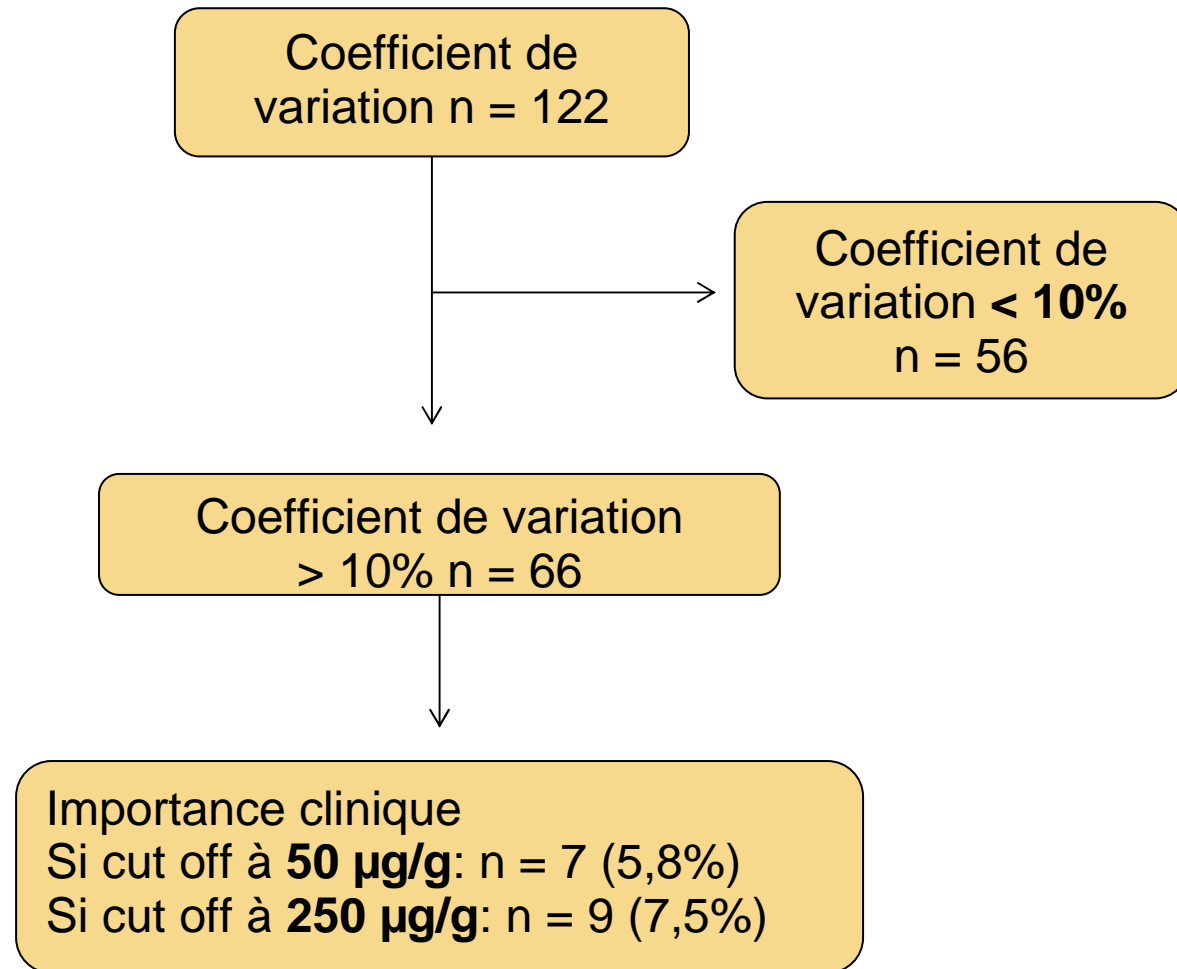
Variabilité intra-selles



Coefficient corrélation de
Spearman : 0,95
 p value < 0,01

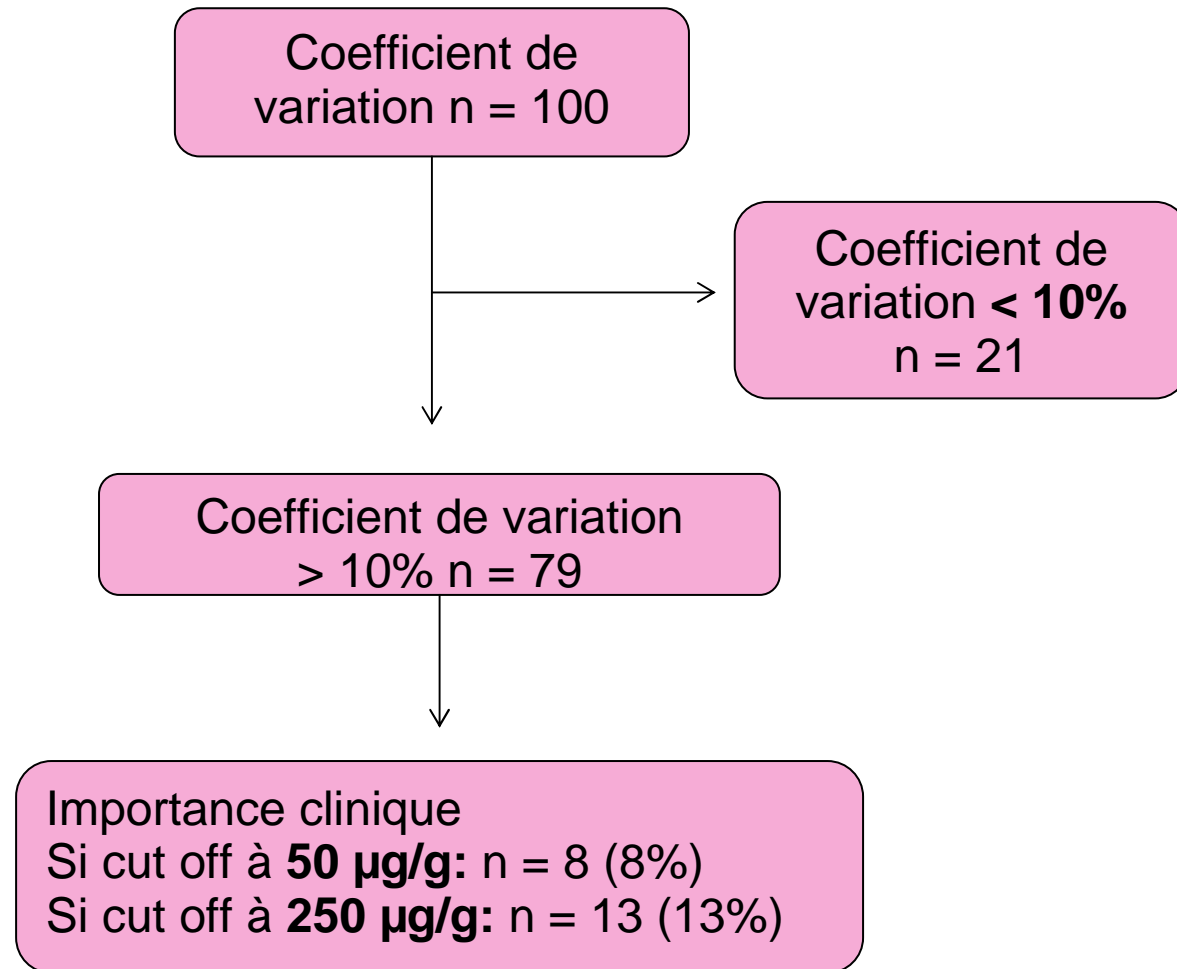
Résultats

Variabilité intra-selles
Calpro 1



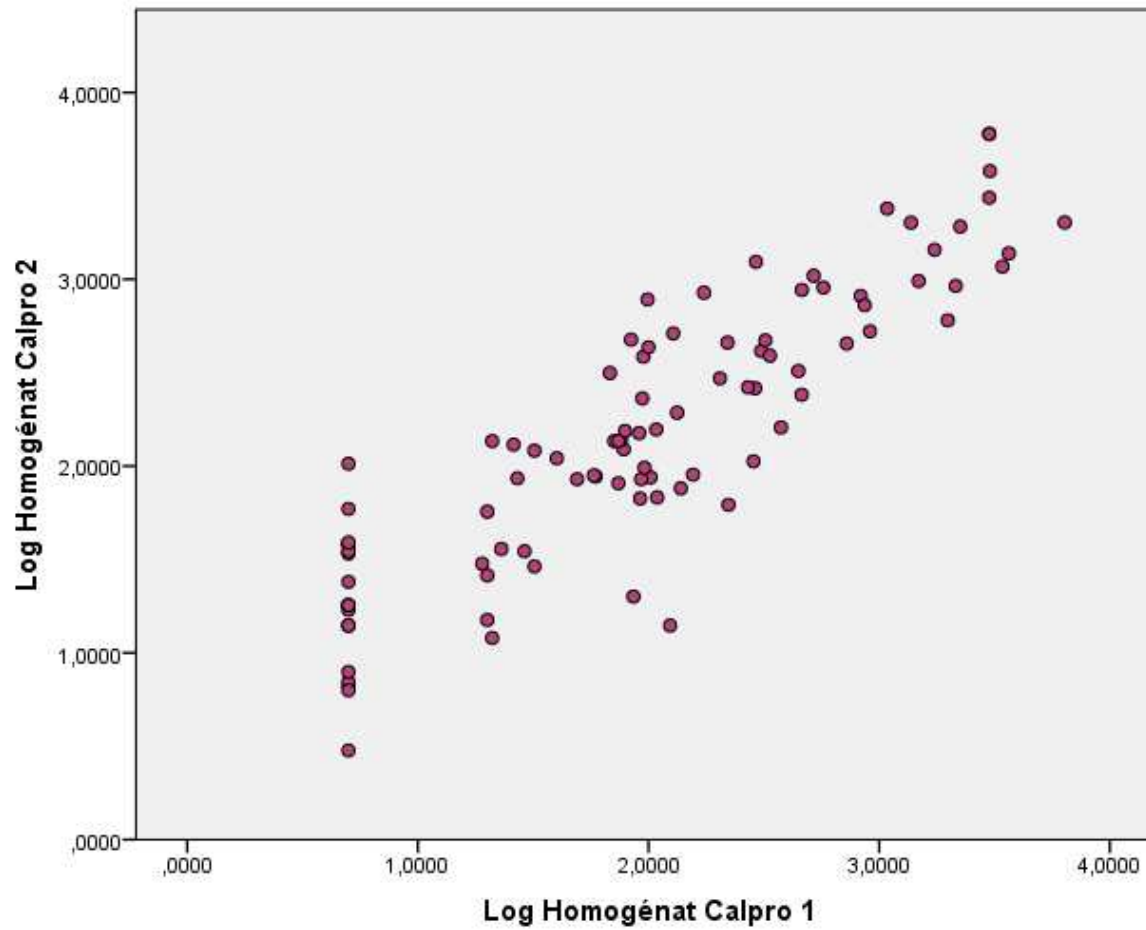
Résultats

Variabilité intra-selles
Calpro 2



Résultats

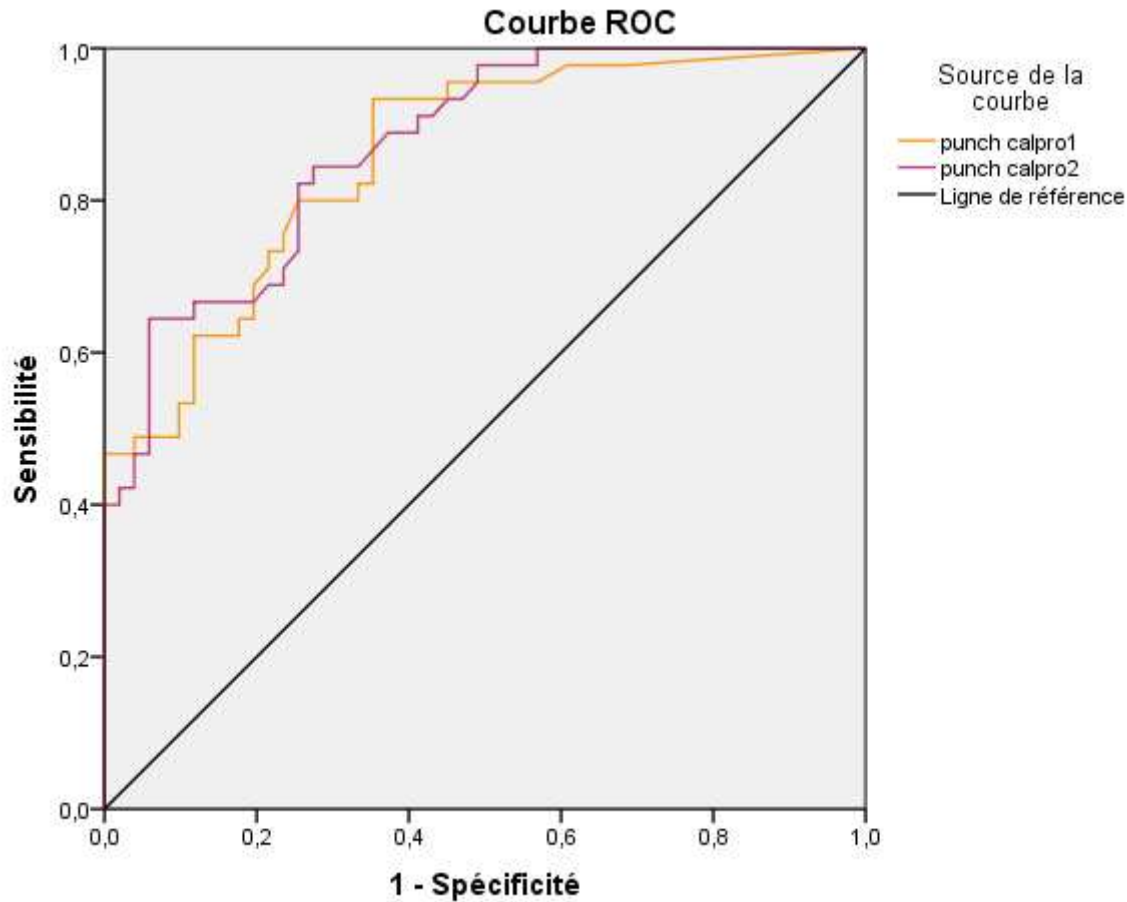
Corrélation Calpro 1/ Calpro 2



Coefficient de corrélation
de Spearman: 0,88
p value < 0,01

Résultats

Corrélation Calpro 1/ Calpro 2



Les segments diagonaux sont générés par des liaisons.

Cut Off 50µg/g:

Calpro 1

Sensibilité: 93%

Spécificité: 63%

Calpro 2

Sensibilité: 98%

Spécificité: 45%

Cut Off 100 µg/g:

Calpro 1

Sensibilité: 80%

Spécificité: 73%

Calpro 2

Sensibilité: 89%

Spécificité: 60 %

Conclusion

- Variabilité interindividuelle:
 - CF dépend du type de pathologie, de la localisation de la maladie et de son activité inflammatoire
 - CF est un bon marqueur de l'inflammation intestinale (y compris pour la MC iléale!)
- Variabilité intra-individuelle:
 - Peu de variabilité à plusieurs jours d'intervalle, même chez des patients avec pathologie active
- Variabilité intra-selles:
 - Grande variabilité mais avec peu d'importance clinique
 - Punch et homogénat ont une bonne corrélation
- Nouveau test calpro 2:
 - Bonne corrélation entre calpro 1 et calpro 2
 - Performances du test sont identiques

Remerciements

Clinique de Gastroentérologie

Dr Anneline CREMER
Prof Denis FRANCHIMONT
Dr Leila AMININEJAD
Prof André Van Gossum

Thermofisher

Yves LUYPAERT

Clinique d'Immunobiologie

Dr Sc Patrick STORDEUR
Dr Julie SMET
Prof Françoise MASCART

Chantal BIRKENWALD
Marie-Rose BOUVRY
Fabian BROHET
Sylviane COGNET
Carine DE REUSE
Chaima EL BATIK
Wissame HELALOUCH
Hilal PEHLIVAN