

Hôpital du Valais
Spital Wallis

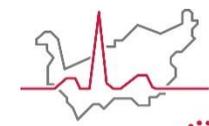


Institut Central des Hôpitaux
Zentralinstitut der Spitäler

Les faux-positifs en sérologie infectieuse

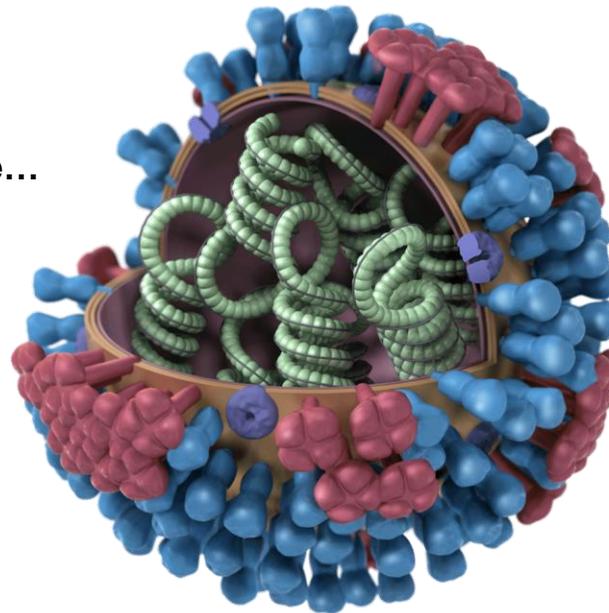
Rev Med Suisse 2023 ; 19 : 1830-4

Dr. Alexis Dumoulin
Hôpital du Valais – Institut Central
alexis.dumoulin@hopitalvs.ch



Principes du diagnostic microbiologique

Pathogène
Virus, bactérie,
levure, parasite...

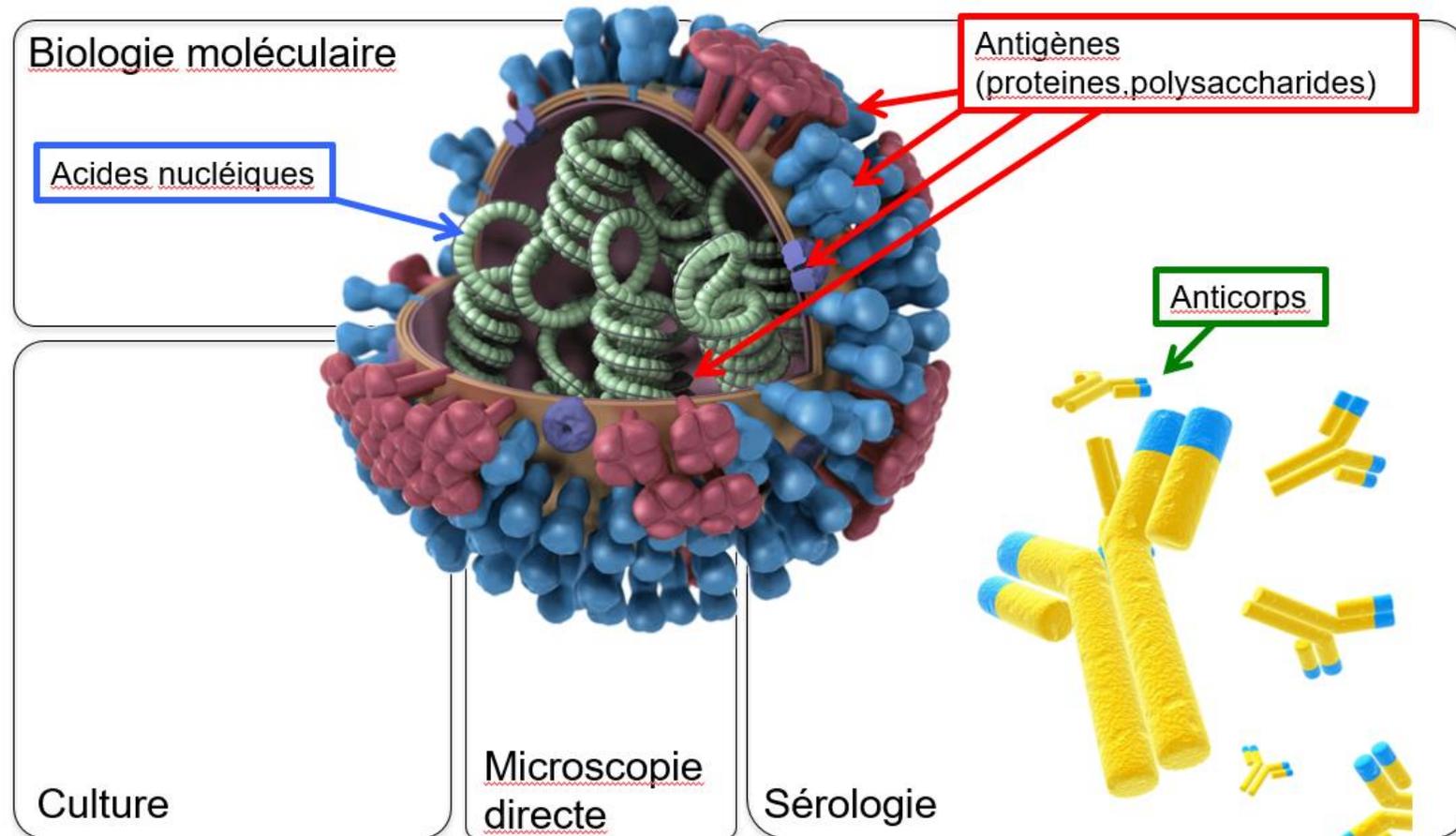


**Réponse
immunitaire**

Anticorps, immunité
cellulaire



Principes du diagnostic microbiologique





Un peu de mathématique ...

Handwritten mathematical notes covering various topics in physics and mathematics, including:

- Quantum Mechanics:**
 - Wave functions: $\langle X, P \rangle = i\hbar$, $\langle P, X \rangle = -i\hbar$
 - Energy levels: $E_n = \frac{1}{2} \hbar \omega (n + \frac{1}{2})$
 - Probability distributions: $\psi(x) = \frac{1}{\sqrt{\pi} \sigma} e^{-\frac{x^2}{2\sigma^2}}$
 - Expectation values: $\langle X \rangle = 0$, $\langle X^2 \rangle = \frac{\hbar}{2m\omega}$
- Classical Mechanics:**
 - Harmonic oscillator: $\ddot{x} + \omega^2 x = 0$
 - Energy: $E = \frac{1}{2} m v^2 + \frac{1}{2} k x^2$
 - Angular momentum: $L = m r v$
- Mathematics:**
 - Calculus: $\frac{d}{dt} \left(\frac{1}{v} \right) = -\frac{1}{v^2} \frac{dv}{dt}$
 - Integration: $\int \frac{1}{x^2} dx = -\frac{1}{x} + C$
 - Series: $\sum_{n=0}^{\infty} x^n = \frac{1}{1-x}$
- Diagrams:**
 - A diagram of a sphere with a horizontal line through its center, labeled with r and h .
 - A graph showing a sinusoidal wave with amplitude A and period T .
 - A graph showing a Gaussian distribution with mean μ and standard deviation σ .



Sensibilité et spécificité

		Référence	
		Positif	Négatif
Méthode évaluée	Positif	VP, vrai positif	FP, faux positif
	Négatif	FN, faux négatif	VN, vrai négatif

Sensibilité

pourcentage de résultats **positifs** obtenus par rapport à l'ensemble des résultats **positifs** de la référence

$$\text{Sensibilité} = \frac{VP}{VP + FN} \times 100$$

Spécificité

pourcentage de résultats **négatifs** obtenus par rapport à l'ensemble des résultats **négatifs** de la référence

$$\text{Spécificité} = \frac{VN}{FP + VN} \times 100$$

Valeurs prédictives

		Référence	
		Positif	Négatif
Méthode évaluée	Positif	VP, vrai positif	FP, faux positif
	Négatif	FN, faux négatif	VN, vrai négatif

Valeur prédictive positive

pourcentage de vrai **positifs** par rapport à l'ensemble des résultats **positifs** de la méthode évaluée

$$\text{Valeur prédictive positive} = \frac{\text{VP}}{\text{VP} + \text{FP}} \times 100$$

Valeur prédictive négative

pourcentage de vrai **négatifs** par rapport à l'ensemble des résultats **négatifs** de la méthode évaluée

$$\text{Spécificité} = \frac{\text{VN}}{\text{FN} + \text{VN}} \times 100$$

Dans l'idéal...

		Référence	
		Positif	Négatif
Méthode évaluée	Positif	VP, vrai positif	FP, faux positif
	Négatif	FN, faux négatif	VN, vrai négatif

- Spécificité 100 %
- Sensibilité 100 %
- Valeur prédictive positive 100%
- Valeur prédictive négative 100%



Mais en réalité, la sérologie c'est plutôt ça...

		Référence	
		Positif	Négatif
Méthode évaluée	Positif	VP, vrai positif	FP, faux positif
	Négatif	FN, faux négatif	VN, vrai négatif

- Spécificité < 100 %
- Sensibilité < 100 %
- Valeur prédictive positive < 100%
- Valeur prédictive négative < 100%



Un problème à la fois...



		Référence	
		Positif	Négatif
Méthode évaluée	Positif	VP, vrai positif	FP, faux positif
	Négatif	FN, faux négatif	VN, vrai négatif



Les faux positifs en sérologie infectieuses

- **Interférences des tests immunologiques**
- **La question de la prévalence**
- **Similarités structurelles**
- **Les «faux» faux-positifs**
- **Autres causes de faux-positifs**



Les faux positifs en sérologie infectieuses

- **Interférences des tests immunologiques**
- La question de la prévalence
- Similarités structurelles
- Les «faux» faux-positifs
- Autres causes de faux-positifs

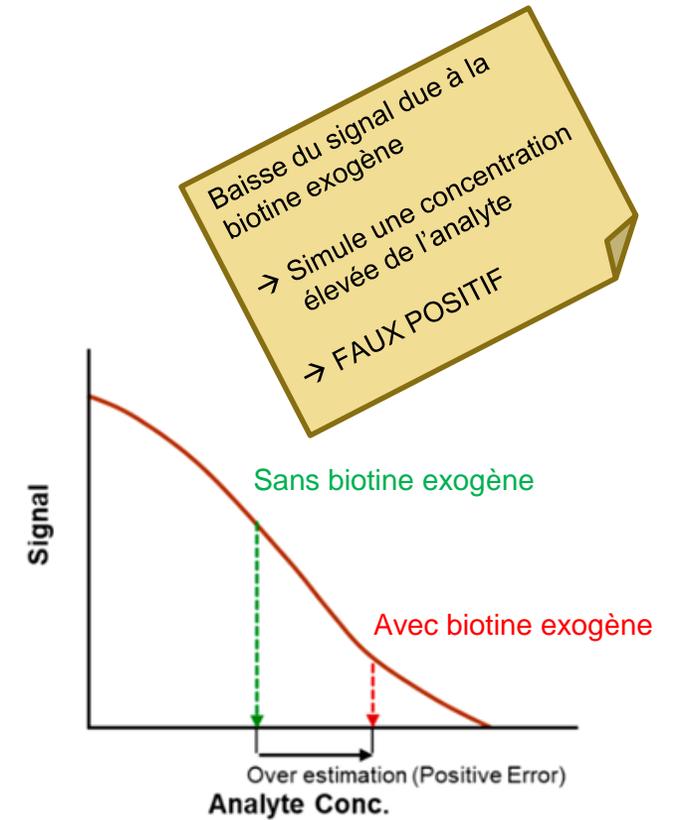
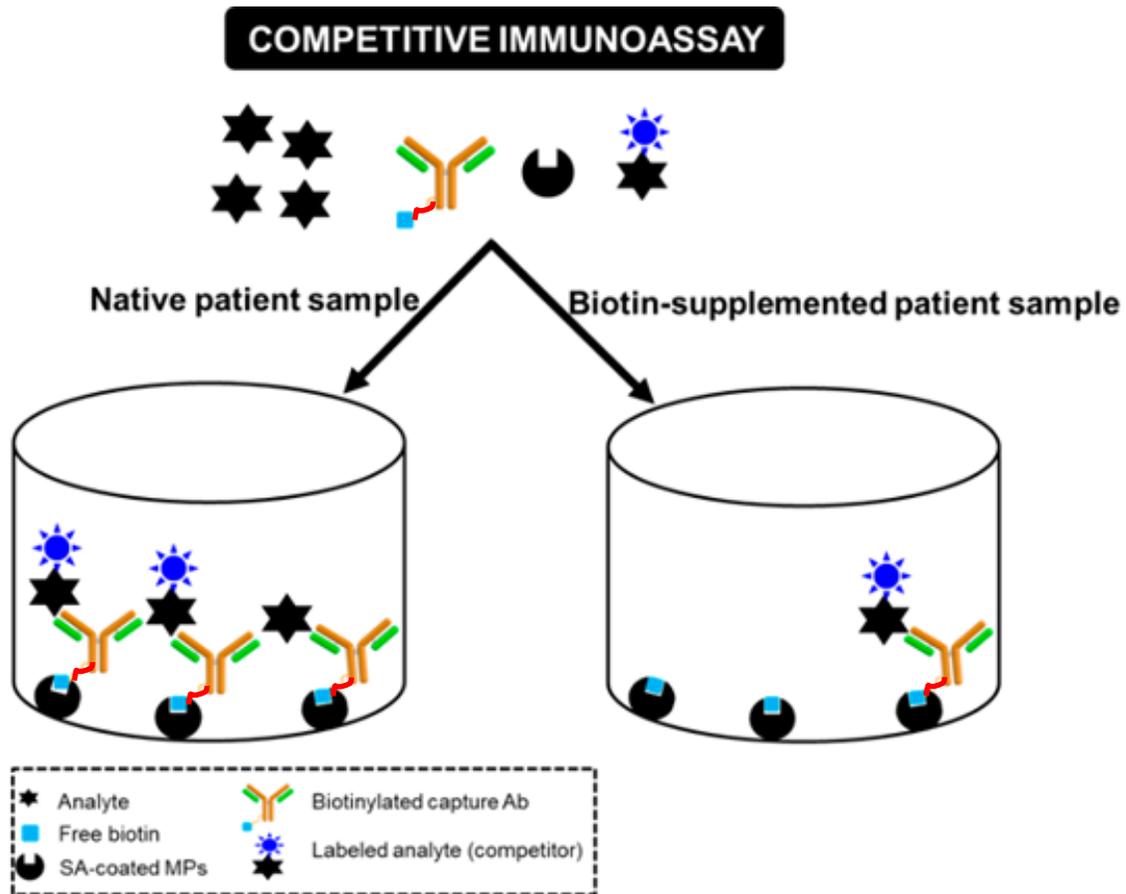


Le problème de la biotine



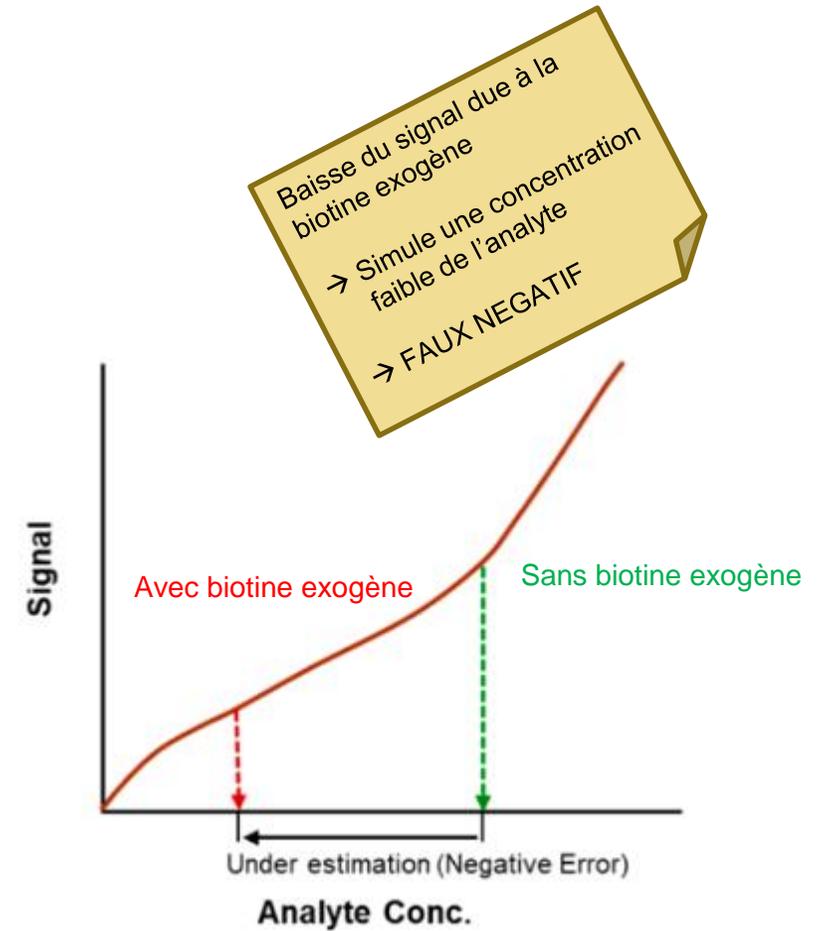
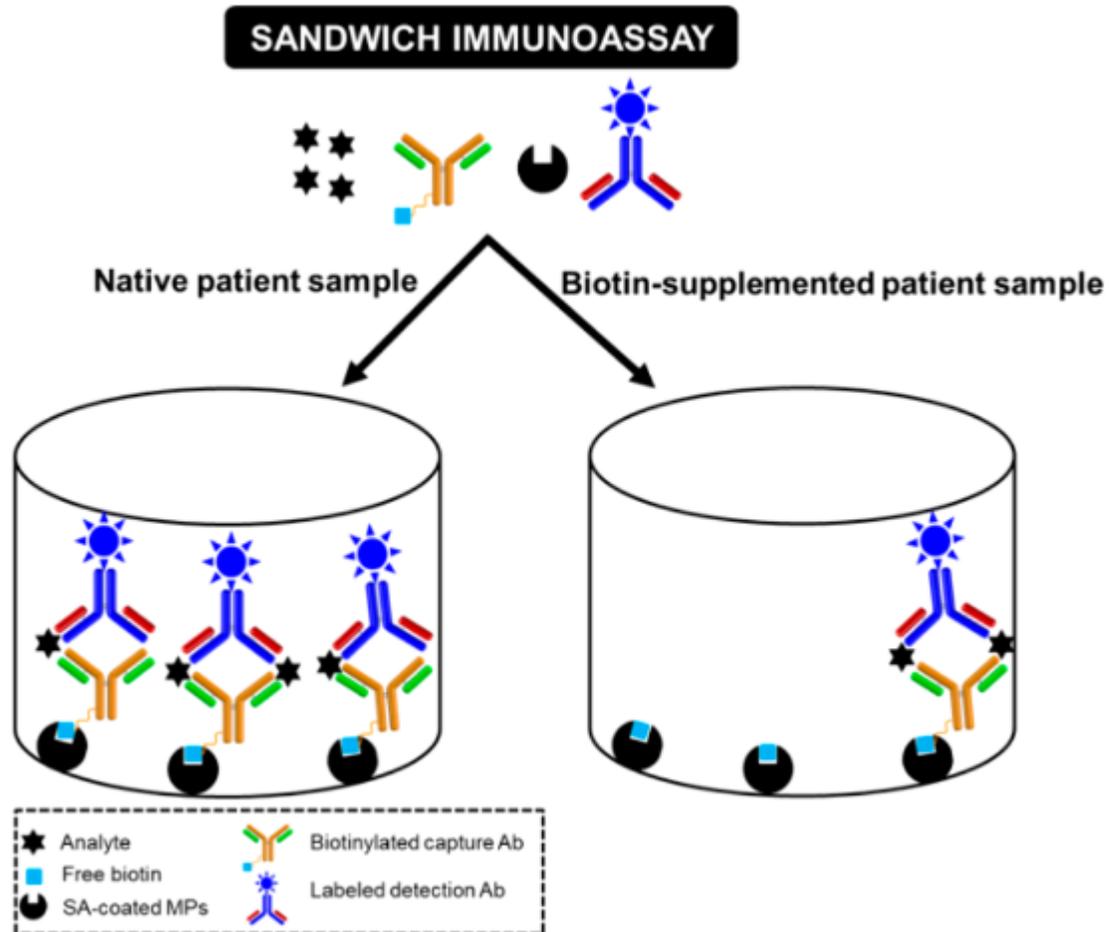
- **Thérapies à base de biotine (par exemple pour la SEP)**
- **Consommation de compléments alimentaires surdosés**

Le problème de la biotine



Luong JHT et al.. ACS Omega. 2020 Jan;5(1):10-18

Le problème de la biotine



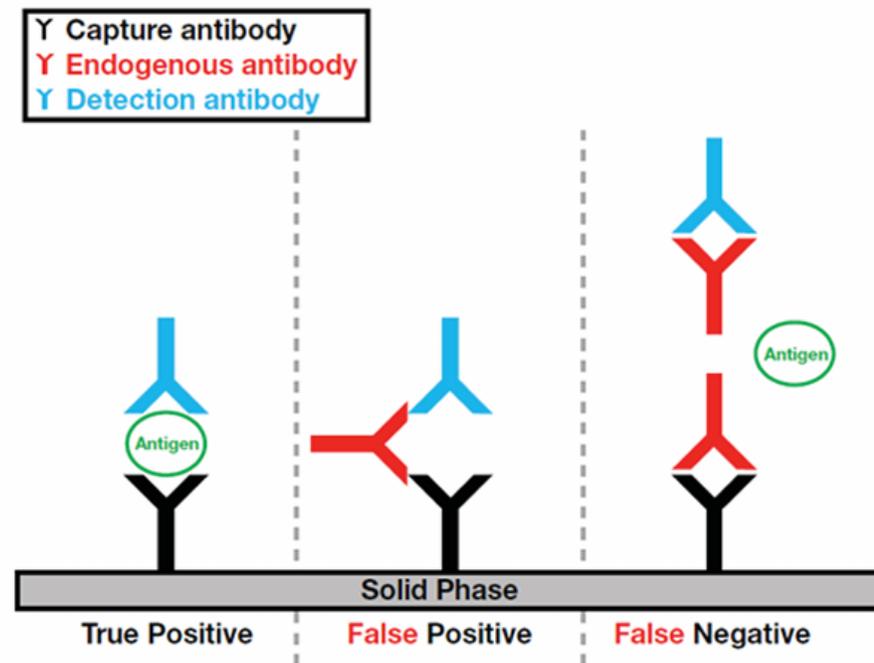
Luong JHT et al.. ACS Omega. 2020 Jan;5(1):10-18

Le problème de la biotine



- **Problème surtout documenté pour le dosage des enzymes thyroïdiennes**
- **Adaptation des réactifs par les fournisseurs**

Anticorps endogènes non-spécifiques



Tate, Jill, and Greg Ward. "Interferences in immunoassay." *The clinical biochemist reviews* 25.2 (2004): 105.



Anticorps endogènes pouvant causer des interférences

- **Anticorps auto-immuns**
 - p. ex. facteur rhumatoïde : auto-anticorps anti-IgG
- **Anticorps hétérophiles : anticorps naturels polyspécifiques (non-spécifiques) de basse affinité**
 - universellement présent
 - peuvent causer des réactions faussement positives ou négatives
 - généralement éliminés par les solutions de blocage des tests commerciaux
- **Anticorps anti-animaux (HAAA): anticorps anti-immunoglobulines animales (spécifiques) de hautes affinité**
 - le plus fréquent: anticorps anti-anticorps de souris (HAMA, prévalence variable 1-80%)
 - selon la quantité, peut causer des réactions faussement positives ou négatives (anticorps secondaire souris-anti-humain...)
 - Cause parfois iatrogène (traitement par anticorps monoclonaux)



Current Problems in Cancer: Case Reports

Volume 7, September 2022, 100178



Anticorps monoclonal
chimérique **souris**-humain



Falsely positive HIV test due to Interference by heterophile antibodies in a patient with Mantle cell lymphoma treated with Rituximab

Mariano Fiorenza^a, Michele Cennamo^a, Evelina La Civita^a, Stefano Brusa^a, Luca Vallefucio^a,
Rosanna Sorrentino^a, Giuseppe Gaeta^b, Federico Chiurazzi^b, Elena Grimaldi^c,
Massimiliano Galdiero^c, Daniela Terracciano^a  , Giuseppe Portella^a

Les faux positifs en sérologie infectieuses

- Interférences des tests immunologiques
- **La question de la prévalence**
- Similarités structurelles
- Les «faux» faux-positifs
- Autres causes de faux-positifs



Le cas du vendredi après-midi...

- **Dépistage HIV faiblement positif chez un patient sans symptôme ni facteur de risque...**



- **Pourquoi est-ce si fréquent ?**



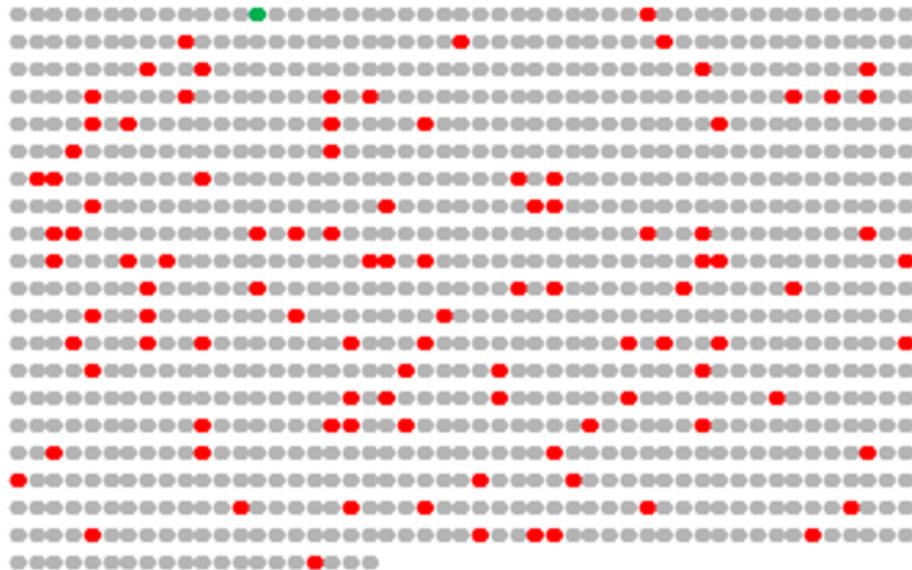
Dépistage HIV faussement positif

- **Fréquence: environ 1/500 tests (ICH: environ 1 par mois)**
 - *Souvent reproductible même sur un nouveau prélèvement*
- **Priorité à la sensibilité → baisse de la spécificité**
- **La moitié (ou plus) des résultats positifs sont des faux-positifs dans une population à faible prévalence !**

Seuls 25% des tests réactifs s'avèrent positifs après confirmation dans la population générale, contre plus de 90% chez les HSH (OFSP, Bulletin 17, 2011)

Dépistage HIV faussement positif

- **Prévalence élevée (p. ex. Afrique du Sud): valeur positive prédictive élevée**



Taux de faux positif de la méthode 0,1 % :
1 cas faussement positif pour 1000 tests (en vert)

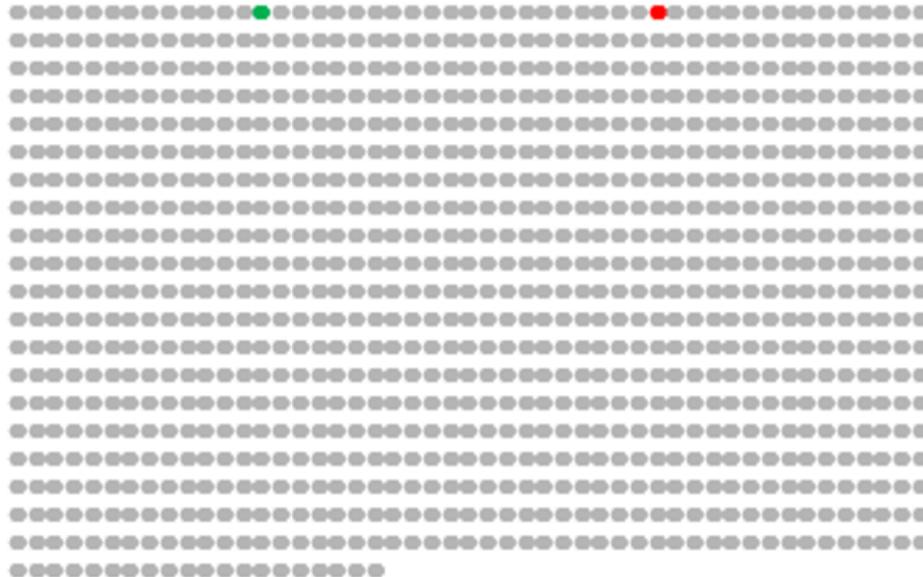
Prévalence 10 % : 100 cas positifs pour 1000 personnes (en rouge)

Sur 1000 dépistages effectués, on s'attend à 101 cas positifs
(100 vrais positifs et 1 faux positif).

La proportion de faux positif est de 1 % et
la valeur prédictive positive est de 99 %.

VIH: problème de diagnostique

- **Prévalence faible (par exemple en Suisse): valeur positive prédictive faible**



Taux de faux positif de la méthode 0,1 % :
1 cas faussement positif pour 1000 tests (en vert)

Prévalence 0.1 % : 1 cas positifs pour 1000 personnes (en rouge)

Sur 1000 dépistages effectués, on s'attend à 2 cas positifs (1 vrai positif et 1 faux positif).

La proportion de faux positif est de 50 % et la valeur prédictive positive est de 50 %.

VIH: problème de diagnostique

- **Même taux de faux positifs pour les auto-tests ...**



VIH: concept de diagnostic OFSP (2025)

1. Infection à VIH ?

- Tests combinés antigène p24 et anticorps anti-VIH (sur Cobas ou Vidas)

2. Si le dépistage est positif, vérifier sur le même tube avec une deuxième méthode

- À l'ICH: virémie HIV-1

3a. Si la PCR est négative: test de confirmation par Western-blot

- **Méthode de confirmation** permettant de contourner les interférences sur le test dépistage
- Détection différenciée des anticorps
- Différenciation HIV-1 et HIV-2
- Nouveau: au centre national de référence (Zürich)

3b. Si la PCR est positive: cas confirmé; déclaration à l'OFSP et au médecin cantonal

- Envoi du prélèvement pour évaluation de l'ancienneté de l'infection («recency») par Western-blot

Le médecin requérant est responsable de vérifier le diagnostic sur un nouveau prélèvement si nécessaire.

Les faux positifs en sérologie infectieuses

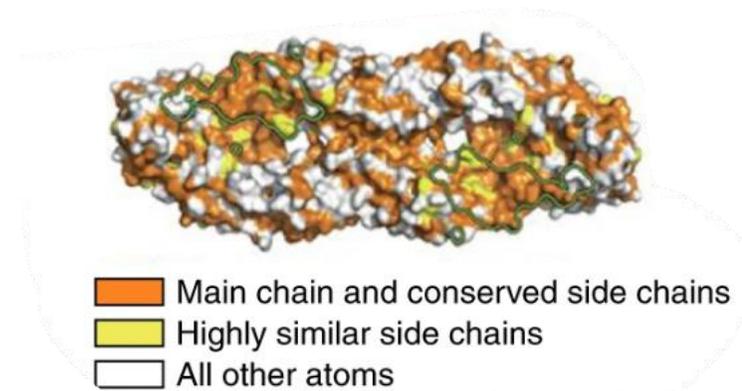
- Interférences des tests immunologiques
- La question de la prévalence
- **Similarités structurelles**
- Les «faux» faux-positifs
- Autres causes de faux-positifs



Réactions croisées dues à des similarités structurelles

- **Flavivirus**

- West-Nile, Dengue, Zika, fièvre jaune, encéphalite japonaise, FSME,...
- Homologies structurelles des épitopes
- p. ex. homologies de la protéine E entre Zika et Dengue



Slon Campos et al. Nat Immunol 19, 1189–1198 (2018)

- Réactions croisées fréquentes !

- **Patient P, 65 ans**
- **Fièvre et symptômes neurologiques**
- **Malaria dans le passé mais pas de voyage récent**
 - Test rapide Malaria, combiné au test rapide Dengue (...utilité discutable)
- **Test rapide Dengue: IgM et IgG positifs → infection récente ?**
 - NS1 négatif, pas de voyage récent, symptômes peu évocateurs
- **Bilan neuro-infectiologique: FSME-IgM positifs**
- **PCR Dengue pour confirmation: négative**
- **Conclusions: réactions croisées entre IgM FSME et test rapide Dengue**

- **Homologies structurelles entre EBV et CMV**
- **Réactions croisées relativement fréquentes, surtout pour les IgM**
- **Parfois réactions croisées même en dehors du groupe Herpès**
 - Due à la forte quantité d'IgM produite lors de l'infection à EBV ?
 - Stimulation polyclonale ?

Les faux positifs en sérologie infectieuses

- Interférences des tests immunologiques
- La question de la prévalence
- Similarités structurelles
- **Les «faux» faux-positifs**
- Autres causes de faux-positifs



Les «faux» faux-positifs

- **Patiente M, 43 ans**
- **Traitée pour une maladie immunologique**
- **Profil sérologique HBV:**
 - Antigène HBs négatif
 - Anticorps anti-HBs positif
 - Anticorps anti-HBc positif
 - **hépatite B résolue, risque de réactivation...**
- **MAIS: pas de notion d'HBV dans le passé et sérologie antérieure sans anti-HBc**
- **Patiente sous traitement par immunoglobulines intraveineuses (IVIg)**
- **Conclusions: transmission passive d'anticorps anti-HBc contenus dans la préparation d'immunoglobuline**



Préparation d'immunoglobulines thérapeutiques (IVIg)

- **Obtenues par combinaison de centaines de dons de sang et concentration des anticorps**
- **Profils sérologiques reflétant la population générale:**
 - IgG anti-rougeole, anti-HBs, IgG anti-CMV,
- **Testés pour HIV, HCV, HBV (HBs Ag), etc...**
- **Peuvent parfois contenir des traces d'anticorps anti-HBc**
 - Problématique avant un traitement immunosuppresseur (Risque de réactivation HBV ?)
Arnold, D. M et al.(2010). Transfusion, 50(12), 2577-2581
- **... ou parfois même d'anticorps anti-syphilis**
Constable, S. A et al. Sexually transmitted infections, 83(1), 57-58.
- **... ou encore d'anticorps anti-Borrelia**
Lucke, I. M. et al. (2021) European journal of neurology, 28:2383-7

- **Enfant d'un an**
- **Hospitalisée dans le contexte d'une maladie immunologique**
- **Bilan des sérologies vaccinales (IgG et IgM...)**
 - IgM anti-rougeole, anti-rubéole et anti-oreillons
- **Vaccinations faites chez le pédiatre avant l'hospitalisation**
- **Détection des IgM suite à la vaccination**
- **Possible pour toutes les maladies à vaccination**
 - Notamment FSME...

Surprises vaccinales

- **Contrôle chez un patient dialysé**

7.06.2019	3.12.2019	7.12.2019	24.12.2019	07.07.2020
HBs antigène négatif	HBs antigène faiblement positif	PCR HBV négative	HBs antigène négatif	
Anti-HBc négatif	Anti-HBc négatif			
Anti-HBs négatif	Anti-HBs négatif			Anti-HBs positif
				
	13.11.2019			
	Vaccination HBV			

- **Détection de l'antigène vaccinal**

- Anjum, Q. (2014). *International journal of health sciences*, 8(2), 189.

Les faux positifs en sérologie infectieuses

- Interférences des tests immunologiques
- La question de la prévalence
- Similarités structurelles
- Les «faux» faux-positifs
- **Autres causes de faux-positifs**

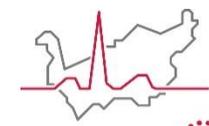


Autres causes de faux-positifs

- **Dans un contexte de recrudescence de rougeole...**
 - Patient hospitalisé, symptômes respiratoires et fièvre
 - 8.2.2024: IgG rougeole négatifs
 - 5.3: IgG rougeole fortement positifs, IgM négatifs
 - 6.3: IgG rougeole négatifs

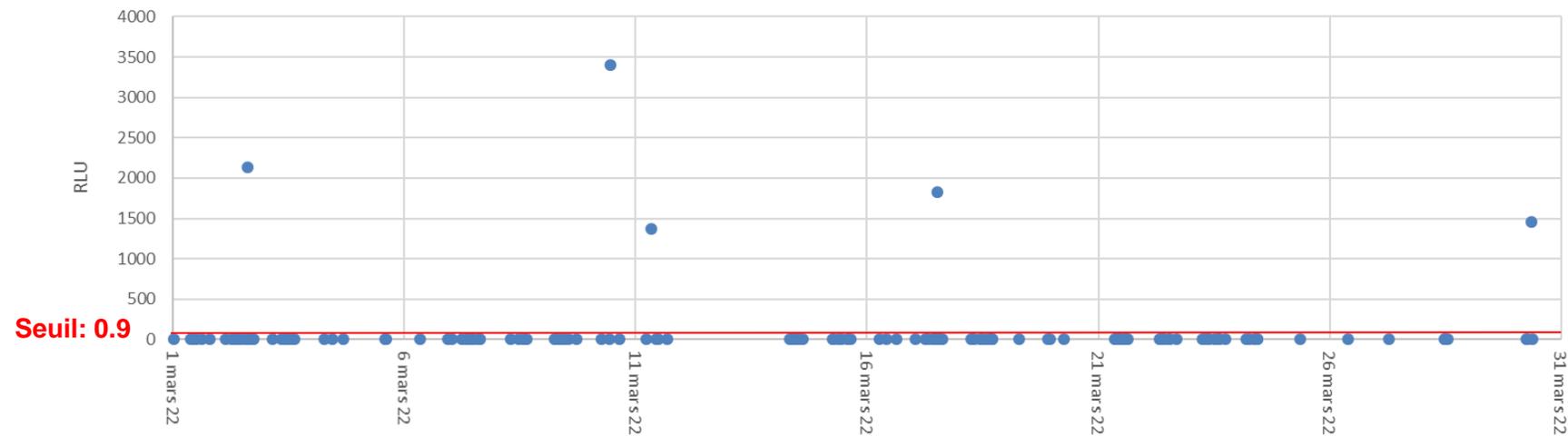


Erreur d'étiquetage au moment de la prise de sang dans le service



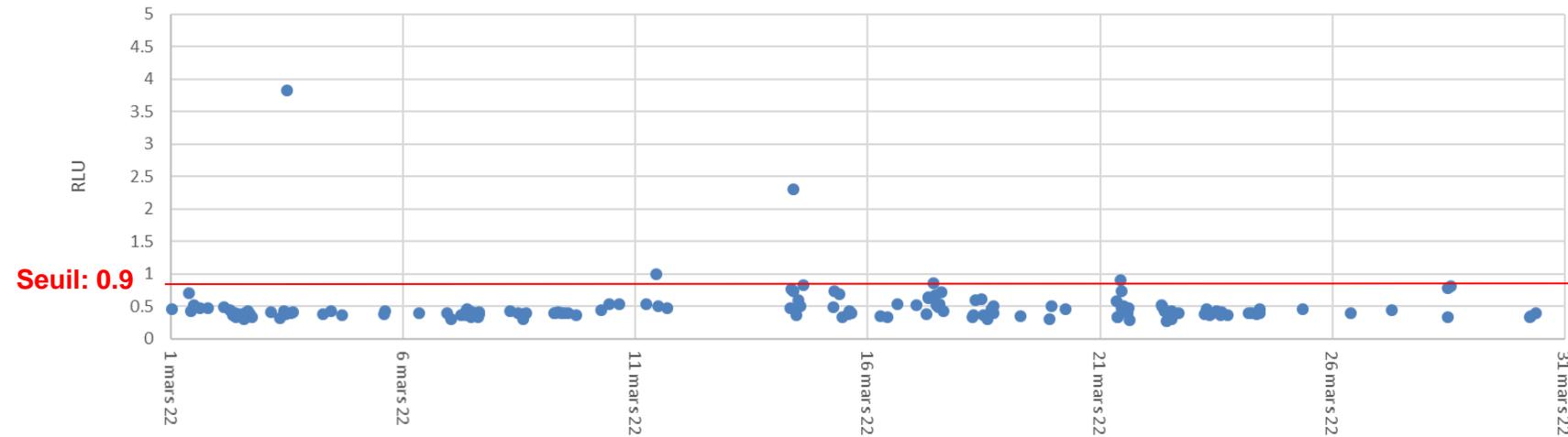
Autres causes de faux-positifs

- **Accumulation suspecte de test HBs antigène faiblement positif**



Autres causes de faux-positifs

- Accumulation suspecte de test HBs antigène faiblement positif



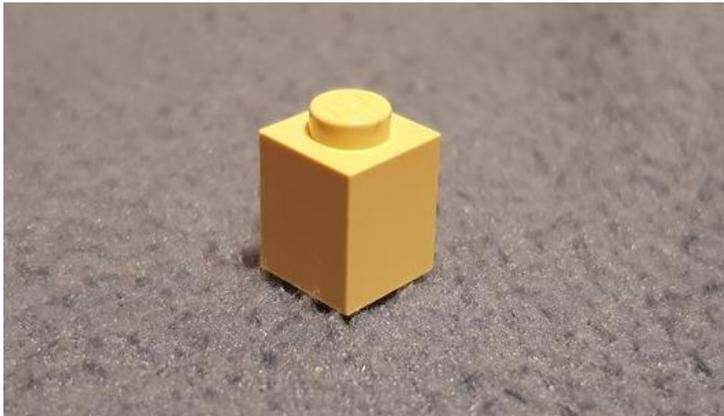
**Problème de réglage → éclaboussures
→ contamination des réactifs**



Et pour les PCR ???

- **Principale cause de faux-positif: la contamination (également pour la culture)**
 - Au moment du prélèvement (p. ex. HSV / VZV dans un LCR d'un patient avec lésions cutanées)
 - Au laboratoire, au niveau de l'extraction (prélèvement hautement positif...)

La PCR est une méthode hautement sensible (quelques copies par réaction)



quora.com

La PCR peut générer des milliards de copies d'ADN



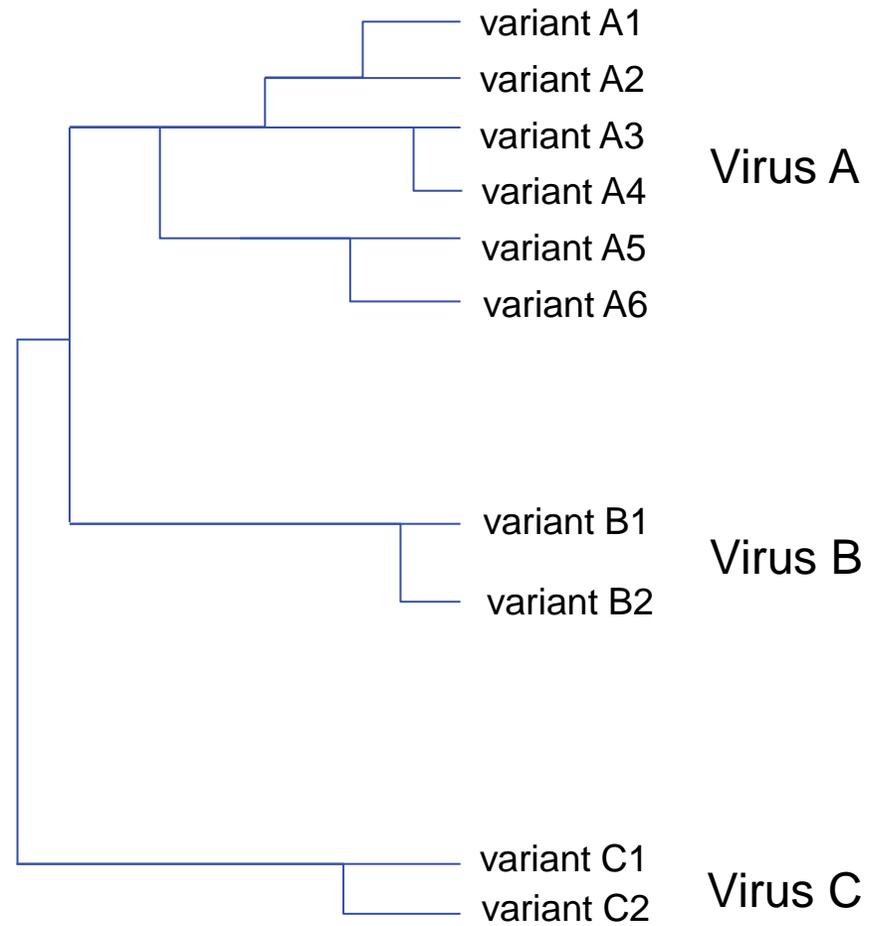
www.bricksmcgee.com

Et pour les PCR ???

- **Principale cause de faux-positif: la contamination**
 - Au moment du prélèvement (p. ex. HSV / VZV dans un LCR d'un patient avec lésions cutanées)
 - Au laboratoire, au niveau de l'extraction (prélèvement hautement positif...)
- **Réactions croisées possibles également**
 - PCR détectant plusieurs espèces d'un même genre (Campylobacter)
 - Cible de PCR se retrouvant dans différentes espèces (p. ex IS481 dans le génome de Bordetella pertussis, mais aussi de B. holmesii et B. bronchiseptica)



Visualiser l'évolution: l'arbre phylogénétique



Conception d'une PCR microbiologique: Quelle cible ?

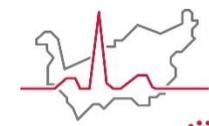


5' - **AGTGACTGTATCCGATTTGC** - 3'

Amorce pour la PCR Virus A

TTCGAC AGTGACTGTATCCGATTTGC ATCCGACCT	Virus A, variant A1	20/20	appariement certain	✓
TTCGAC AGTG TCTGTATCCGATTTGC ATCCGACCT	Virus A, variant A2	19/20	appariement probable	✓
TTCGAC AGTG TCTGTATCCGATTTG T ATCCGACCT	Virus A, variant A3	19/20	appariement peu probable	✗
TTCGAC AGTGACTGTATCCG TAAGTT ATCCGACCT	Virus A, variant A4	14/20	appariement très peu probable	✗
TTCGAC AGTGAC CCGATTTGC ATCCGACCT	Virus A, variant A5	15/20	appariement très peu probable	✗
TTCGAC AGTGACTGTATCCGATTTGC ATCCGACCT	Virus A, variant A6	17/20	appariement très peu probable	✗
\				
ACC				
T ACGAC CCCCGCTTATCCGTCCGAGG ATC GGACCT	Virus B, variant B1	4/20	appariement très peu probable	✓
T ACGAC CCCCGCTTATCCGTACGAGG ATC GGACCT	Virus B, variant B2	5/20	appariement très peu probable	✓
T ACGTC AGT AACTGTATGCGATTTGC TTCGC CTAT	Virus C, variant C1	18/20	appariement probable	✗
T ACGTC AGTGACTGTATCCGATTTGC TTCGC CTAT	Virus C, variant C2	20/20	appariement certain	✗

... en conclusion

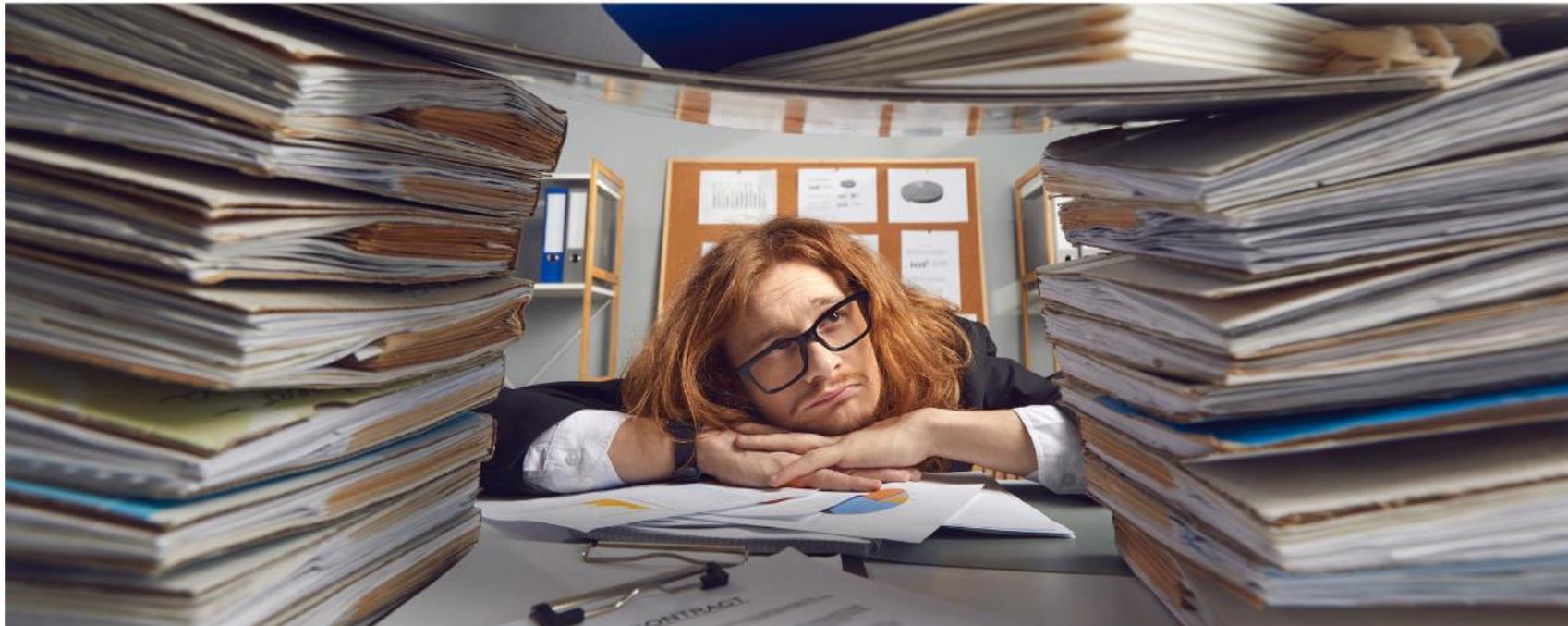


Hôpital du Valais
Spital Wallis



Institut Central des Hôpitaux
Zentralinstitut der Spitäler

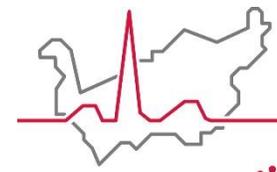
TOO MUCH INFORMATION!





... en conclusion

- **Les faux-positifs en sérologie sont rares, mais peuvent toucher pratiquement tous les paramètres**
 - fréquence estimée : 0.05 % (1 sur 2000)
- **Les conséquences peuvent être importantes**
 - Mauvais traitement
 - Isolement
 - ...
- **En cas de suspicion de faux-positifs:**
 - Répéter le test, si possible sur un nouveau prélèvement
 - Confirmer/infirmier par une méthode de confirmation
 - Essayer de trouver la cause
- **Eviter les analyses inutiles (faible probabilité pré-test)**
 - p. ex. IgM lors de contrôles vaccinaux



Hôpital du Valais
Spital Wallis



Institut Central des Hôpitaux
Zentralinstitut der Spitäler

Merci pour votre attention !