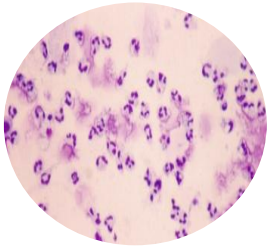


8e Congrès Francophone d'Allergologie

Cytologie et Explorations Ciliaires

Jean-François Papon

Sce ORL et Chirurgie Cervico-Faciale (CHIC et AP-HP)
& U955, équipe 13 Inserm
CNRS, UERL 7240
CHU Henri Mondor, Créteil

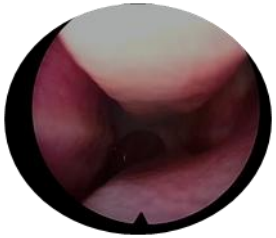
U933 Inserm
Hôpital A. Trousseau

Conflits d'intérêt

- **Intérêts financiers :** néant
- **Liens durables ou permanents :** néant
- **Interventions ponctuelles :** Expert table Ronde Aptar Pharma
- **Intérêts indirects :** néant

Explorations des rhinites

Clinique



- EVA
- Questionnaires
- Endoscopie

Tests allergologiques

- Tests épicutanés
- Dosage IgE spécifiques

Tests respiratoires

- Spirométrie

→ *débits de pointe*

- Rhinomanométrie

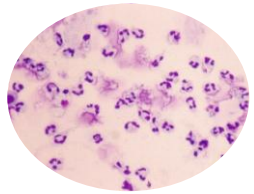
→ *résistances*

- R. acoustique

→ *aires*

- Tests olfactifs

Analyses cellulaires



- M. optique

→ formule cytologique

→ *battement ciliaire*

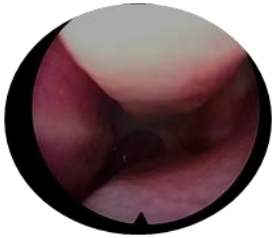
- ME

→ *ultrastructure*

J.F. Papon (Créteil)

Explorations des rhinites

Clinique



- EVA
- Questionnaires
- Endoscopie

Tests allergologiques

- Tests épicutanés
- Dosage IgE spécifiques

Tests respiratoires

- Spirométrie

→ *débits de pointe*

- Rhinomanométrie

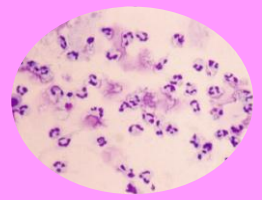
→ *résistances*

- R. acoustique

→ *aires*

- Tests olfactifs

Analyses cellulaires



- M. optique

→ formule cytologique

→ *battement ciliaire*

- ME

→ *ultrastructure*

Muqueuse turbinale

- **Epithelium**
  - Pseudostratifié cilié
  - Tête des CI et CM: squameux
  - PNN possible
- **Lamina propria**
  - Tissu conjonctif
  - Glandes séromuqueuses
  - Cellules immunocompetentes
  - Système nerveux autonome et sensitif
  - Réseau vasculaire

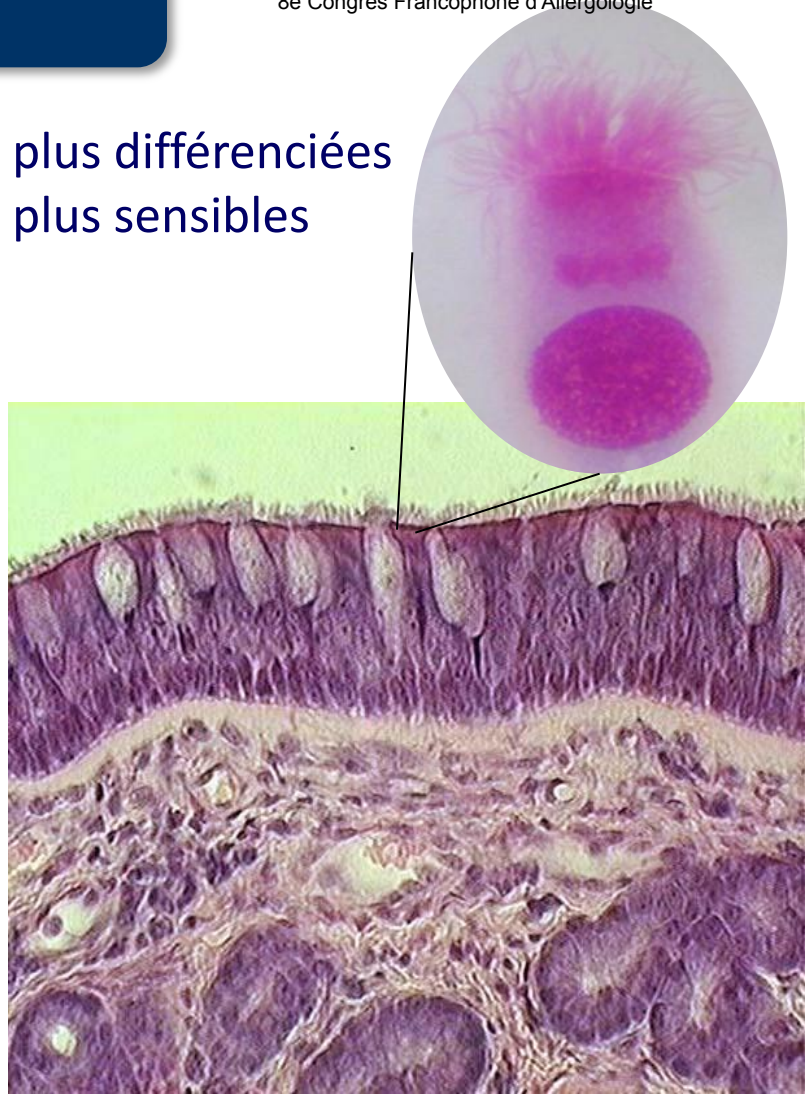
Muqueuse turbinale

C. Ciliées

8e Congrès Francophone d'Allergologie

- **Epithelium**
  - Pseudostratifié cilié
  - Tête des CI et CM: squameux
  - PNN possible
- **Lamina propria**
  - Tissu conjonctif
  - Glandes séromuqueuses
  - Cellules immunocompetentes
  - Système nerveux autonome et sensitif
  - Réseau vasculaire

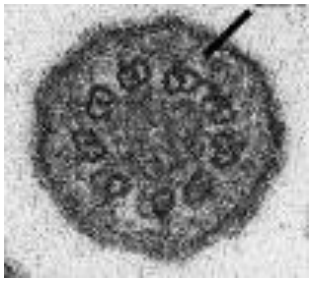
- Les plus différenciées
- Les plus sensibles



J.F. Papon (Créteil)

Deux types de cils

Cils primaires



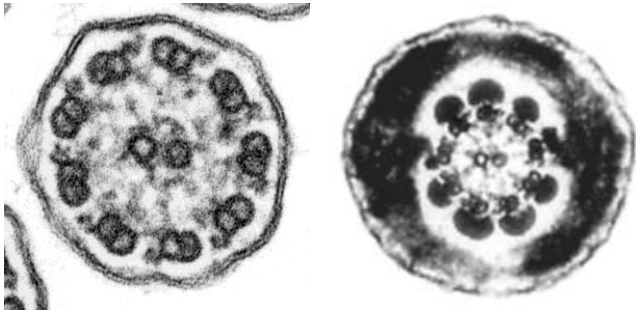
Bimonte et al, Dev Biol 2011

« 9+0 »

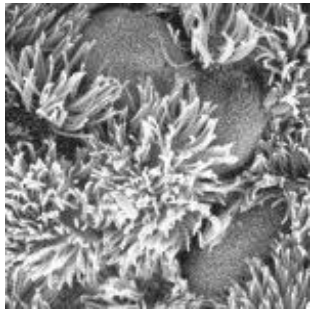
«antenne»

Ainsworth et al. Nature 2007

Cils mobiles et Flagelles



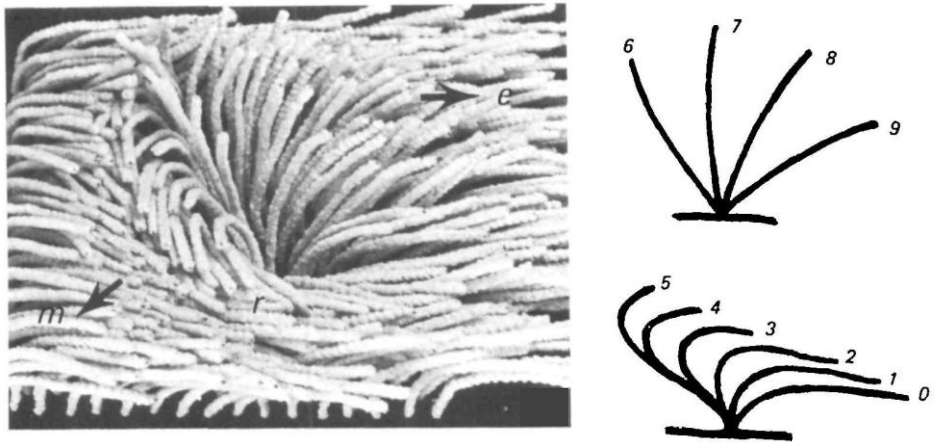
« 9+2 »



transport

J.F. Papon (Créteil)

Le battement des cils respiratoires



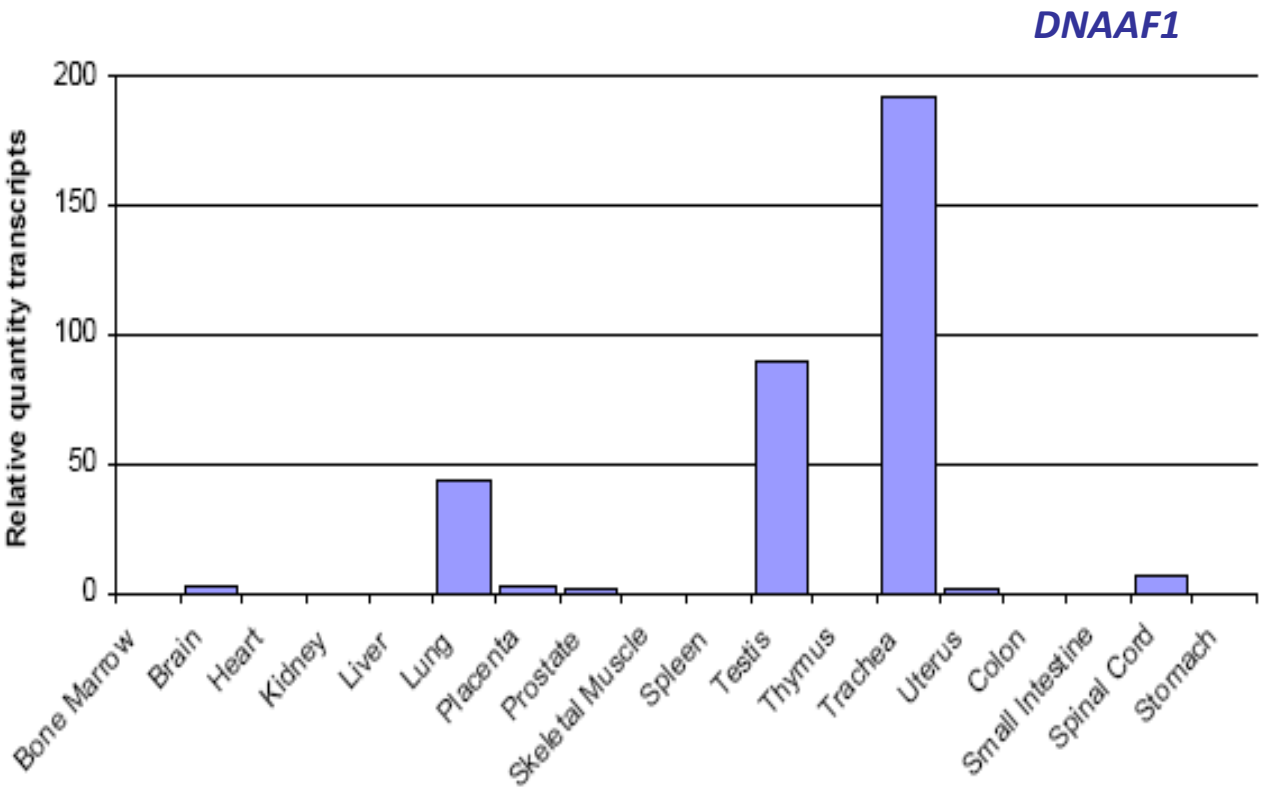
- **Mouvement permanent et périodique en 3D**
- **Asymétrique**
- **Onde métachrone**

Salathe et al. 2007
Braiman et al. 2008

Epuration muco-ciliaire

Expression des gènes ciliaires

- **Les gènes ciliaires sont exprimés dans les testicules et les tissus “ciliés”**

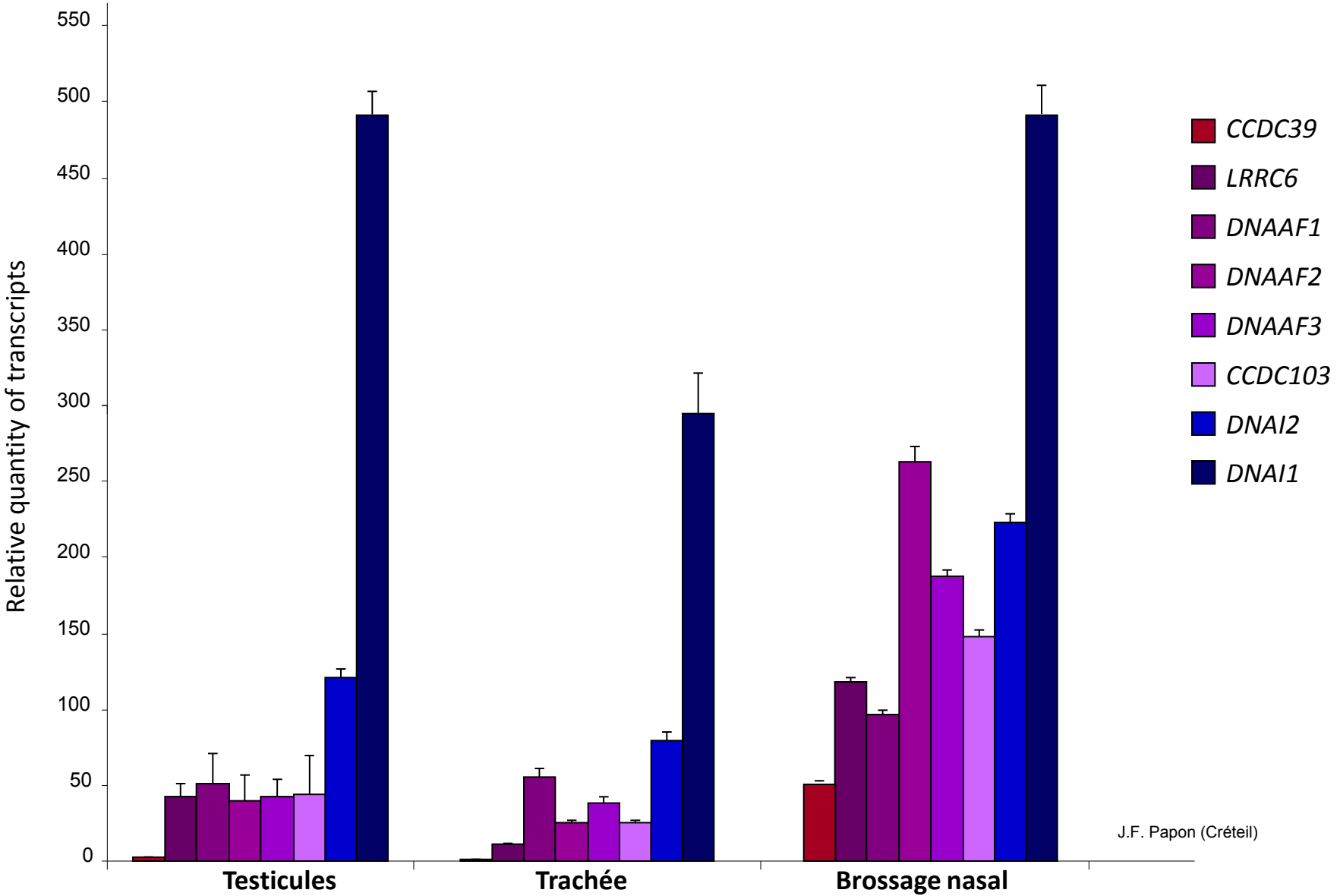


J.F. Papon (Créteil)

Duquesnoy et al. AJHG 2009

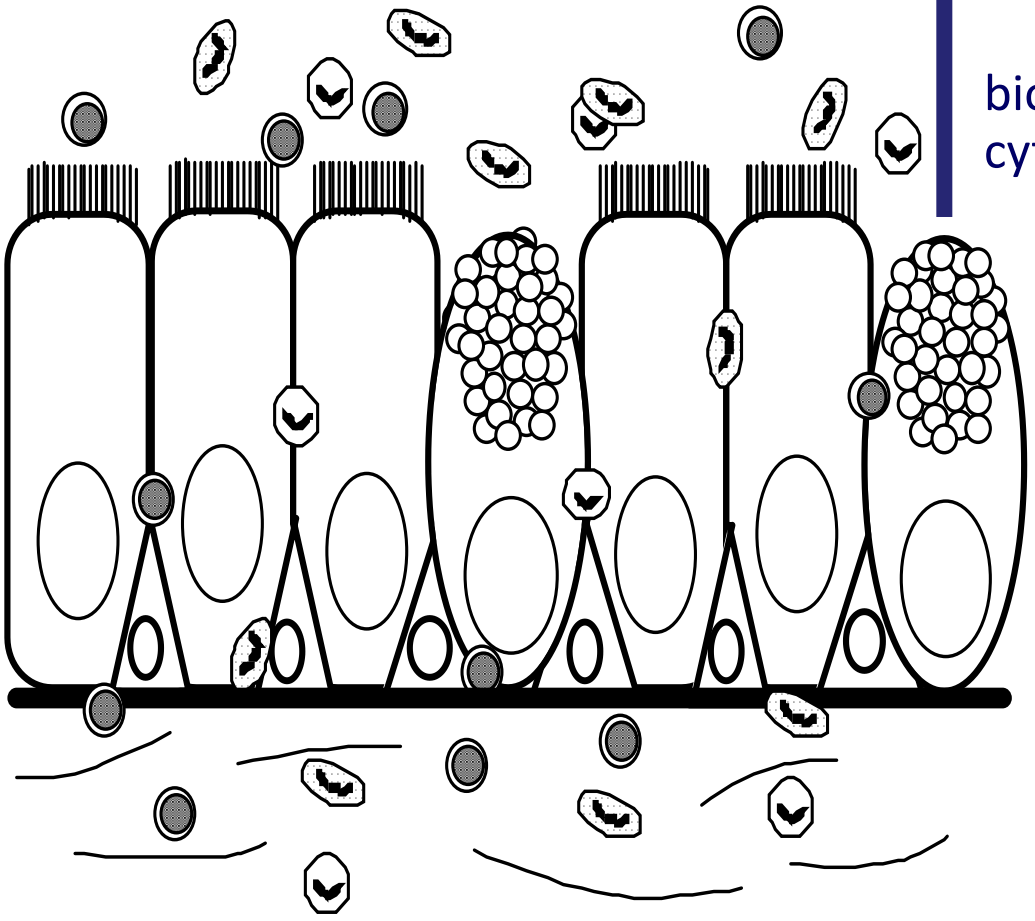
Expression des gènes ciliaires

- **L'expression des gènes ciliaires est facile à étudier dans le brossage nasal**



J.F. Papon (Créteil)

Prélèvements nasals



mouchage
lavage
aspiration

↓

biochimie
cytologie

curetage
brossage

↓

cytologie
cils

biopsie

↓

histologie
cils

Explorations des rhinites

Clinique

- EVA
- Questionnaires
- Endoscopie

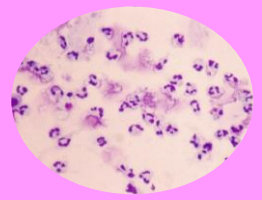
Tests allergologiques

- Tests épicutanés
- Dosage IgE spécifiques

Tests respiratoires

- Spirométrie
  - → *débits de pointe*
- Rhinomanométrie
  - → *résistances*
- R. acoustique
  - → *aires*
- Tests olfactifs

Analyses cellulaires

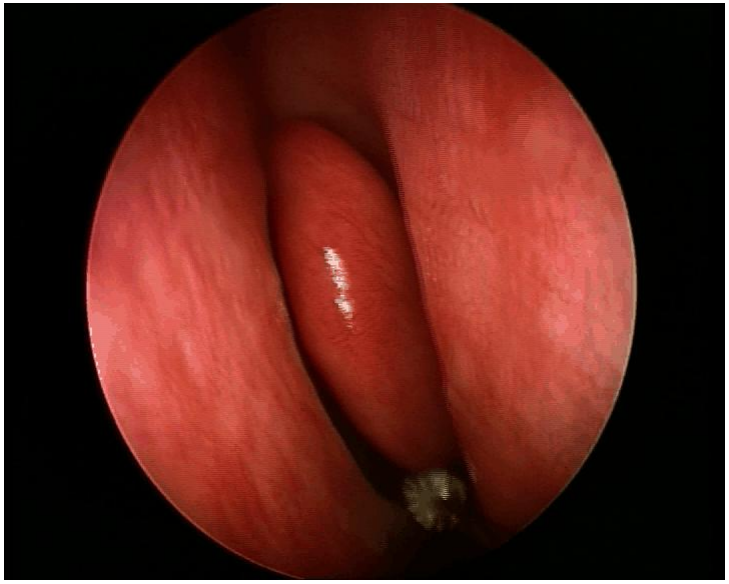


- M. optique
  - → formule cytologique
  - → *battement ciliaire*
- ME
  - → *ultrastructure*

Réalisation de la formule cytologique (1/2)

- **Prélèvement nasal: facile et peu invasif**

- Brosse (ou écouvillon)
- Anesthésie locale: xylocaïne (+/- naphazoline)
- 1/3 moyen du cornet inférieur
- Rhinoscopie/endoscopie

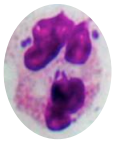
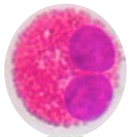
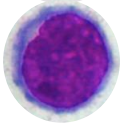
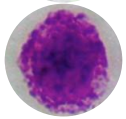


J.F. Papon (Créteil)

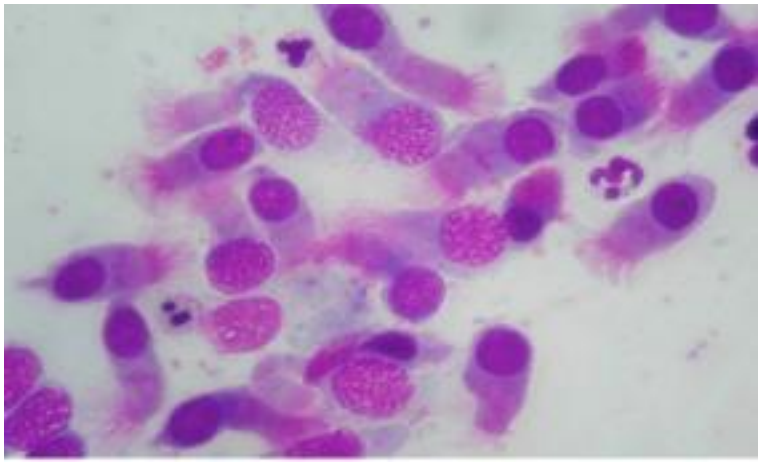
Meltzer et al. Am J Rhinol 1988

Réalisation de la formule cytologique (2/2)

- **Analyse en microscopie optique**

- Fixation sur lame
- Coloration MGG (parfois Papanicolaou)
- Richesse cellulaire:
  - *C. épithéliales*
  - *C. inflammatoires*
- Formule cytologique (200 cellules):
  - *Neutrophiles* 
  - *Eosinophiles* 
  - *Lymphocytes* 
  - *Mastocytes* 

Sujet sain



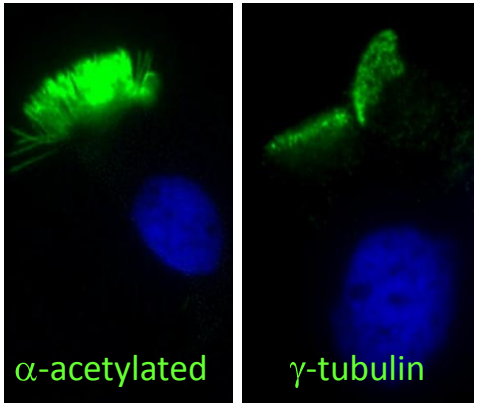
Coloration MGG, grossissement x1000

J.F. Papon (Créteil)

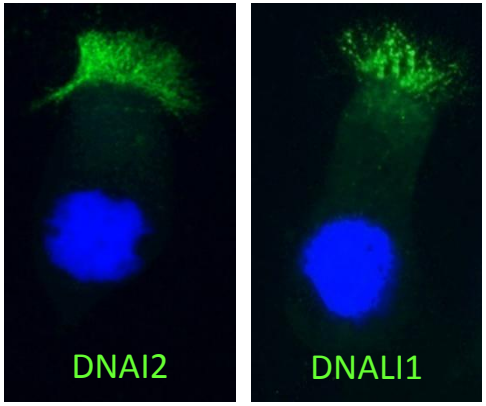
Gelardi et al. Ital J Pediatr 2012

Immunofluorescence en haute résolution

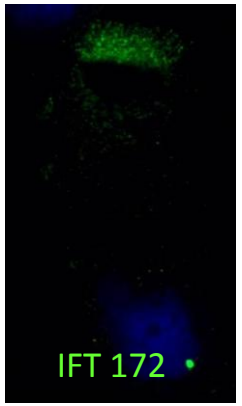
Structures ciliaires



tubulines

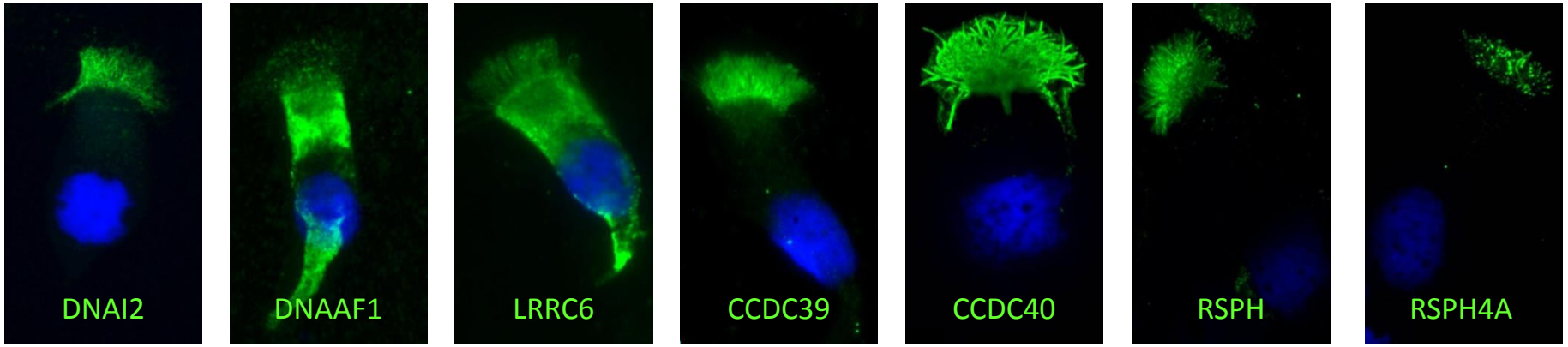


ODA IDA



IFT

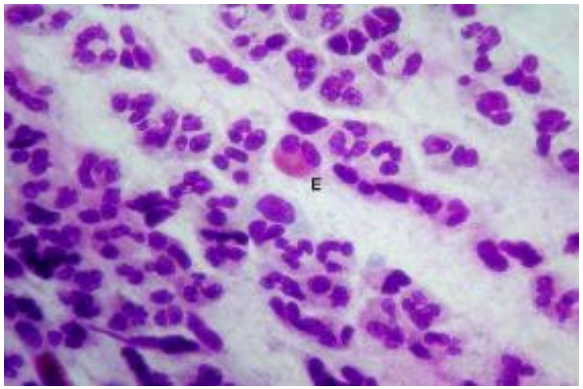
Protéines codées par des gènes ciliaires



J.F. Papon (Créteil)

Formule cytologique: rhinites allergiques

- Inflammation dans la rhinite allergique perannuelle
- Correlations cytologie/phenotype



MGG, X1000

THE JOURNAL OF Allergy AND Clinical Immunology

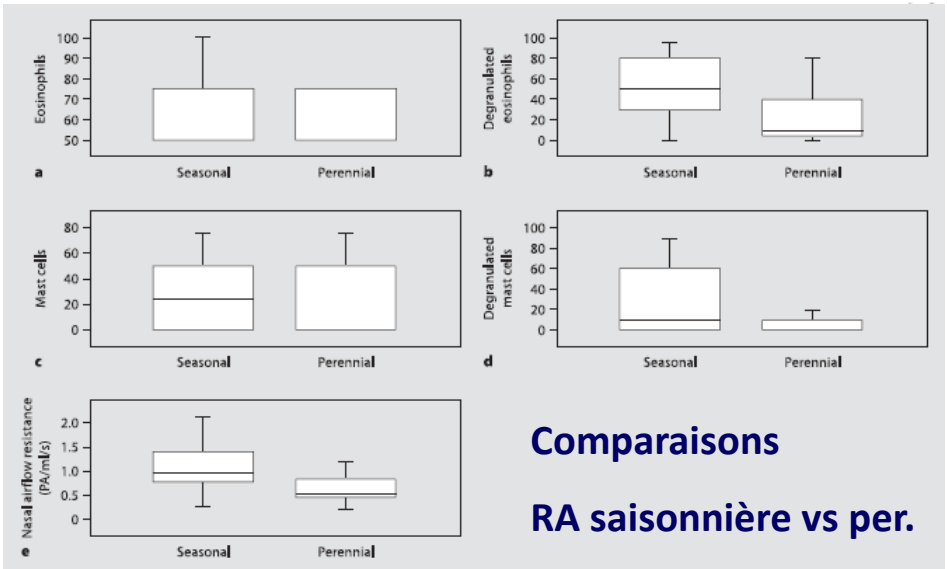
d'Allergologie

Minimal persistent inflammation is present at mucosal level in patients with asymptomatic rhinitis and mite allergy

Giorgio Ciprandi, MD,[a] Sandra Buscaglia, MD,[a] Giampaola Pesce, BS,[a] Caterina Pronzato, MD,[a] Vittorio Ricca, MD,[a] Silvano Parmiani, BS,[b] Marcello Bagnasco, MD,[a] and Giorgio Walter Canonica, MD[a] *Genoa and Milan, Italy*

Formule cytologique

	Allergic patients					Healthy volunteers				
	TC	N	E	M	CD54	TC	N	E	M	CD54
1	41	40	1	0	1	2	2	0	0	0
2	34	25	5	4	2	1	0	1	0	0
3	52	40	12	0	2	0	0	0	0	0
4	59	45	14	0	2	1	1	0	0	0
5	14	12	1	1	1	0	0	0	0	0
6	9	4	5	0	1	1	1	0	0	0
7	15	10	5	0	2	2	2	0	0	0
8	6	4	1	1	2	1	0	1	0	0
9	2	2	0	0	1	1	1	0	0	0
10	5	3	2	0	2	1	1	0	0	0



Comparaisons

RA saisonnière vs per.

International Archives of Allergy and Immunology

Nasal Resistance and Allergic Inflammation Depend on Allergen Type

Matteo Gelardi[a] Alessandro Maselli Del Giudice[a] Teresa Candreva[a] Maria Luisa Fiorella[a] Michaela Allen[b] Catherine Klersy[b] Gian Luigi Marseglia[b] Giorgio Ciprandi[c]

[a]Dipartimento di Oculistica e Otorinolaringoiatria, Università di Bari, Bari, [b]Clinica Pediatrica e Servizio di Biometria ed Epidemiologia Clinica, Università di Pavia, IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia, and [c]Dipartimento Patologie Testa Collo, Azienda Ospedale-Università San Martino, Genoa, Italy

- Les patients avec une RA perannuelle ont une inflammation résiduelle à **PNN**
- **RA saisonnière**: plus d'inflammation et plus d'obstruction nasale

J.F. Papon (Créteil)

Formule cytologique: rhinites non allergiques

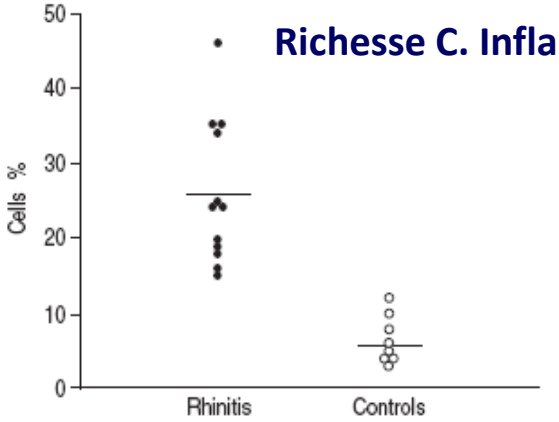
EUROPEAN RESPIRATORY *journal*
OFFICIAL SCIENTIFIC JOURNAL OF THE ERS
8e Congrès Francophone d'Allergologie
Eur Respir J, 1996, 9, 2474–2478
DOI: 10.1183/09031936.96.09122474
Printed in UK - all rights reserved

- Inflammation dans la rhinite perannuelle non IgE
- Sous-groupes cytologiques

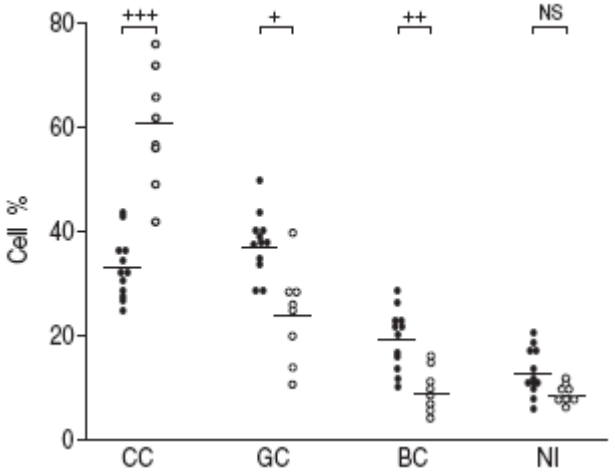
Modified epithelial cell distribution in chronic airways inflammation

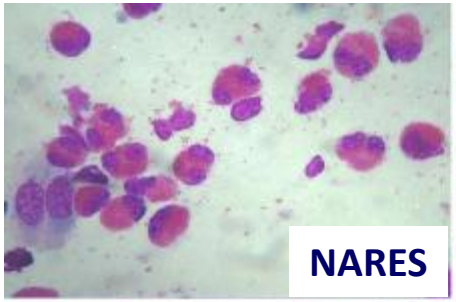
C. Chapelin, A. Coste, L. Gilain, F. Poron, F. Verra, E. Escudier

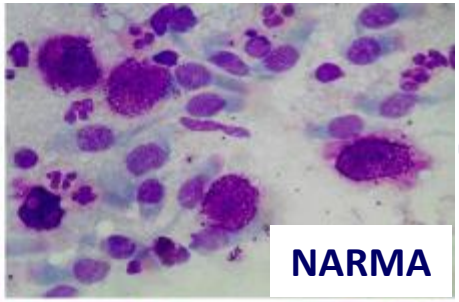
Richesse C. Inflammatoires

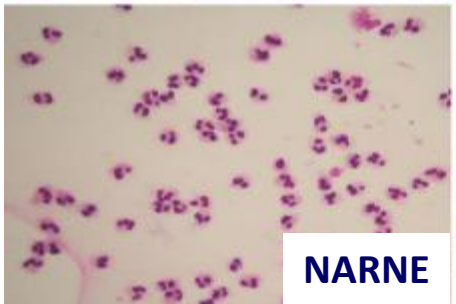


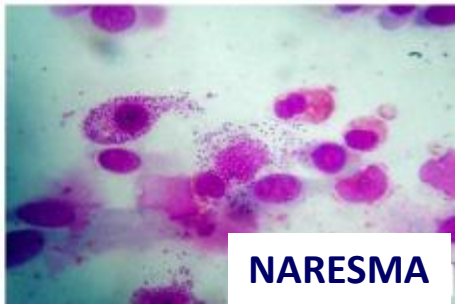
Répartition des C. épithéliales











ITALIAN JOURNAL OF PEDIATRICS
REVIEW Open Access

Nasal cytology in children: recent advances

Gelardi Matteo[1], Marseglia Gian Luigi[2*], Licari Amelia[2], Landi Massimo[3], Dell'Albani Ilaria[4], Incorvaia Cristoforo[5], Frati Franco[4] and Quaranta Nicola[1]

- Les patients avec une rhinite non allergique ont une **inflammation épithéliale**
- Sous-groupes de rhinites non allergiques: **corrélation avec la sévérité et l'évolution**

Explorations des rhinites

Clinique

- EVA
- Questionnaires
- Endoscopie

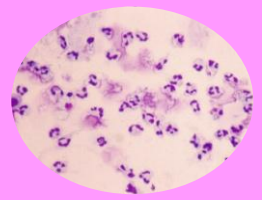
Tests allergologiques

- Tests épicutanés
- Dosage IgE spécifiques

Tests respiratoires

- Spirométrie
  - → *débits de pointe*
- Rhinomanométrie
  - → *résistances*
- R. acoustique
  - → *aires*
- Tests olfactifs

Analyses cellulaires



- M. optique
  - → formule cytologique
  - → *battement ciliaire*
- ME
  - → *ultrastructure*

J.F. Papon (Créteil)

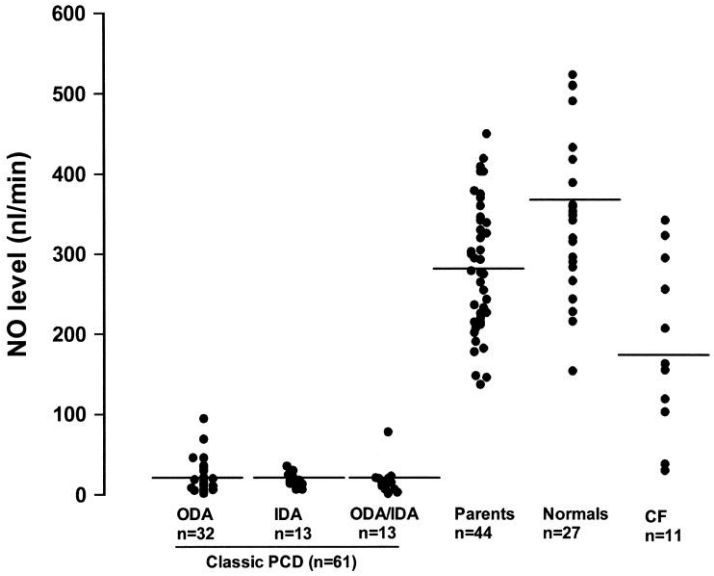
Explorations du battement ciliaire

Indirecte

- Temps de transport

→*saccharine, marqueur radioactif*

- Mesure du NO nasal



Noone et al. AJRCCM 2004

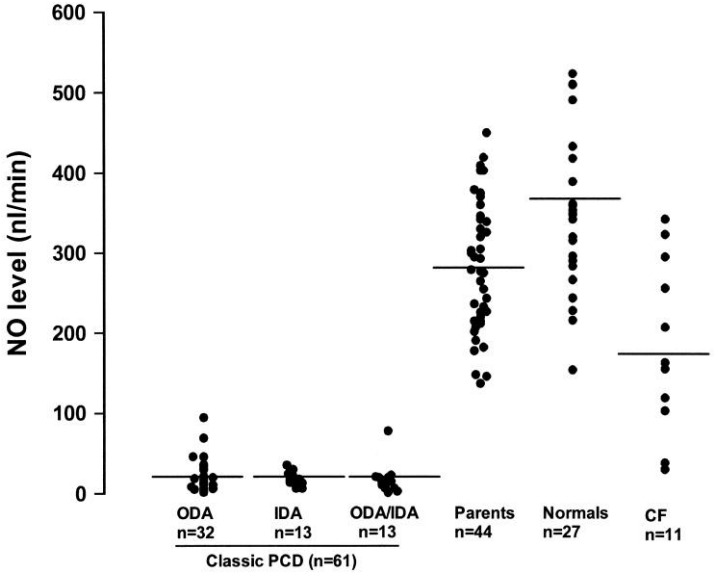
Explorations du battement ciliaire

Indirecte

- Temps de transport

→*saccharine, marqueur radioactif*

- Mesure du NO nasal



Noone et al. AJRCCM 2004

Directe

- Evaluation semi-quantitative

→*% de bordures battantes*

- Photomultiplicateur

→*fréquence du battement ciliaire*

- Vidéomicroscopie à haute vitesse

Chilvers et al. JACI 2003

Stannard et al. AJRCCM 2010

Analyse du battement ciliaire

Microscopie et photomultiplicateur: FBC seulement

→ mais certaines anomalies ont une FBC non altérée

Videomicroscopie numérique à haute vitesse

• Technique sensible et spécifique pour sélectionner les patients en vue d'une ME *Stannard et al. AJRCCM 2010*

• Pourrait être spécifique du type d'anomalie de la structure ciliaire *Chilvers et al. JACI 2003*

Principes de la vidéomicroscopie à haute vitesse

Prélévement: brossage nasal

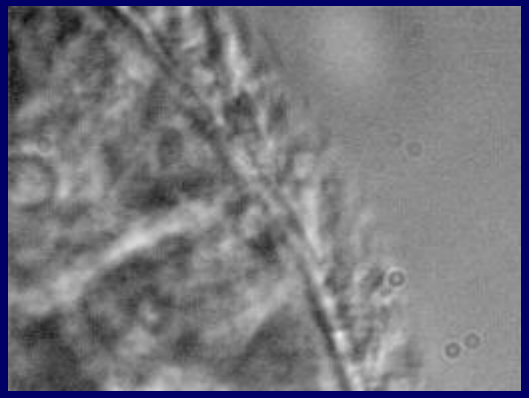
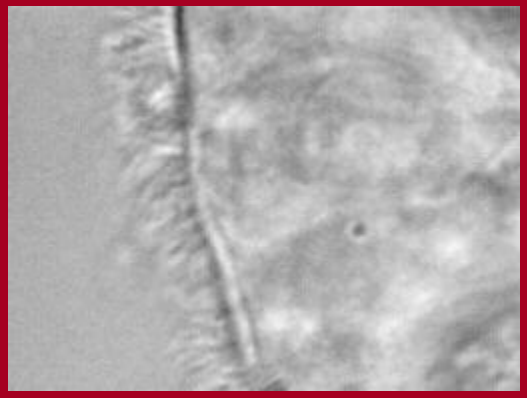
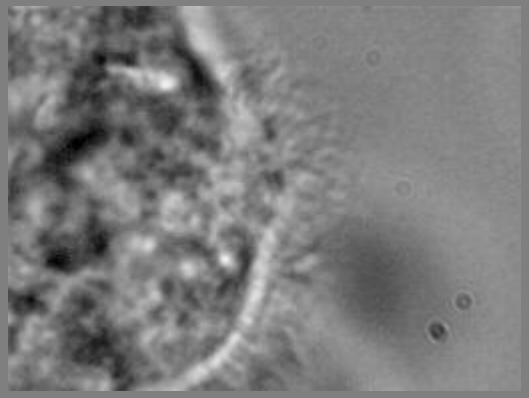
Objectif x100

Camera numérique à haute vitesse
(355 images/sec)

- Fréquence du battement par kymographie et transformée de Fourrier (FFT)

- Analyse cinématique à partir du suivi des extrémités du cil

Exemples de battements ciliaires

Normal	Immobile	Dyskinétique
Vitesse normale (355 images/sec)		
		

Principes de la kymographie

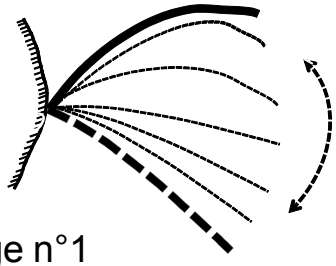


Image n°1

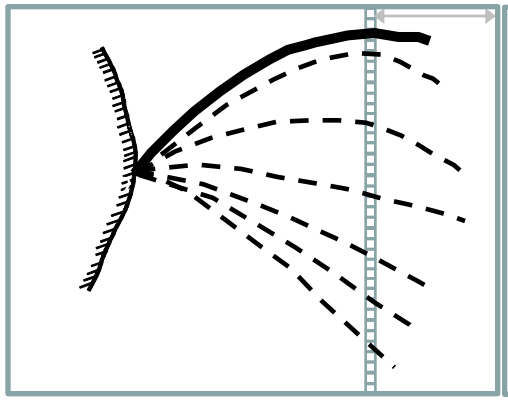
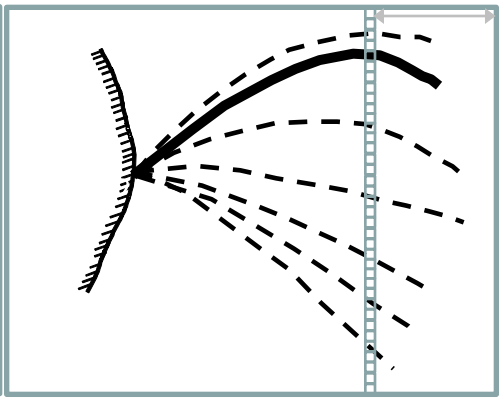
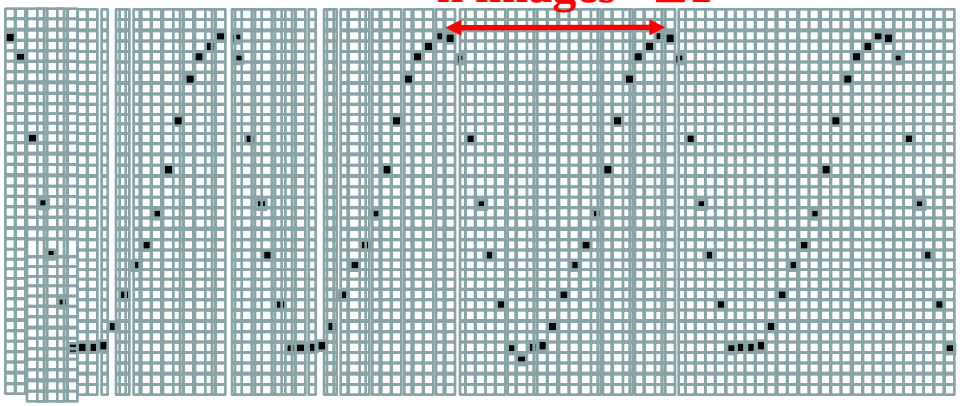


Image n°2

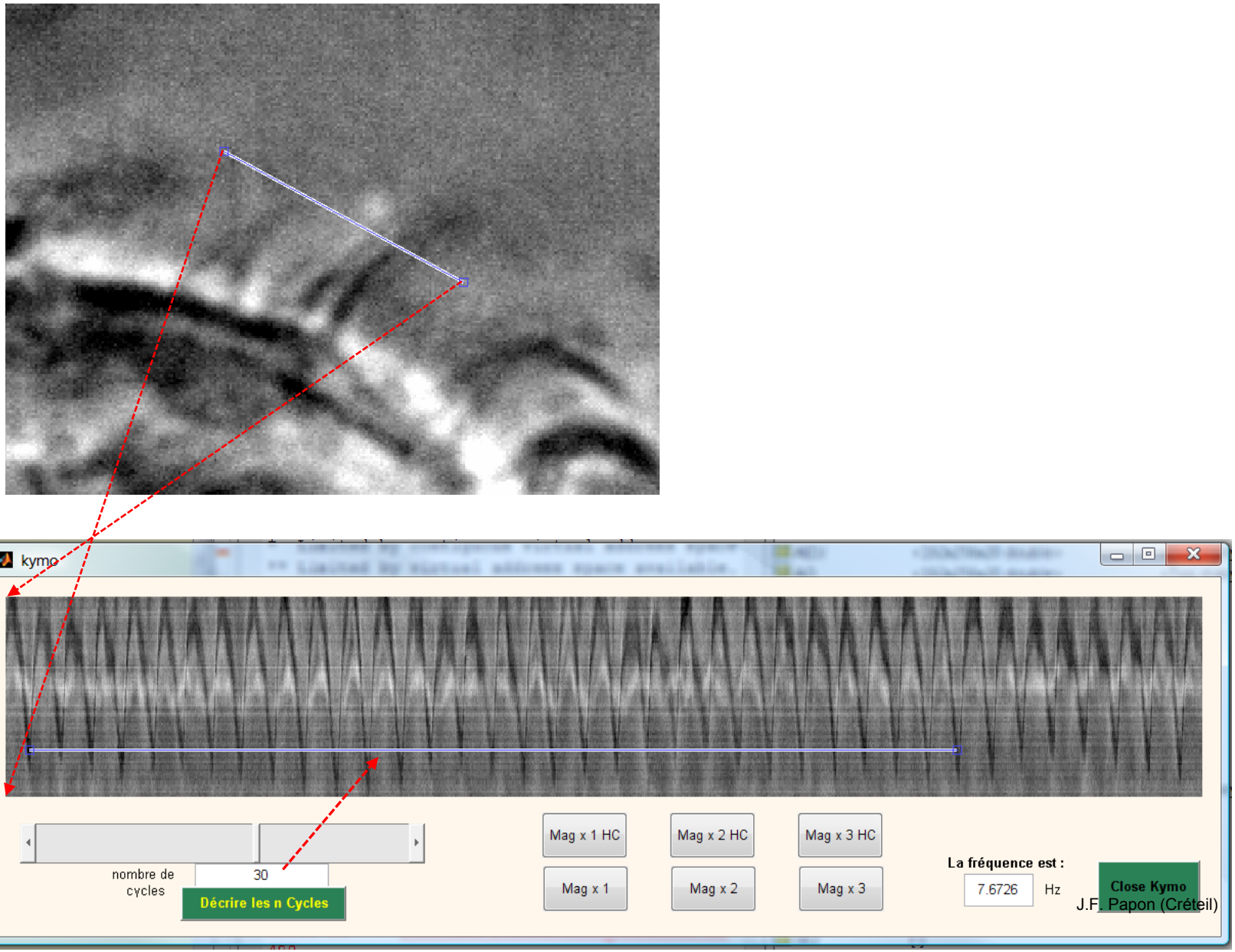


$$Freq = \frac{1}{\Delta T}$$

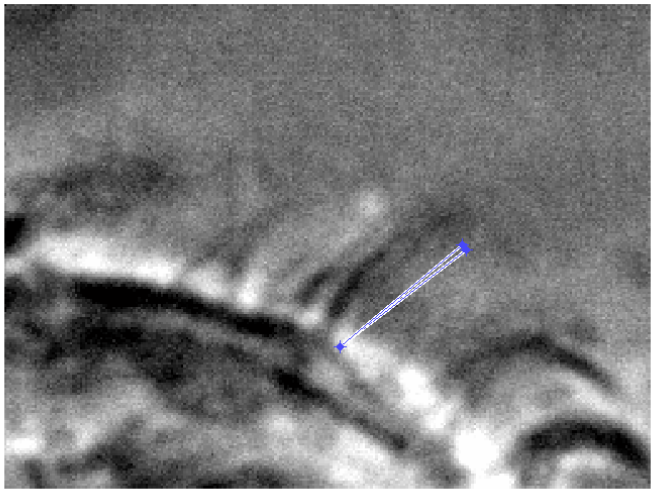
n images =ΔT

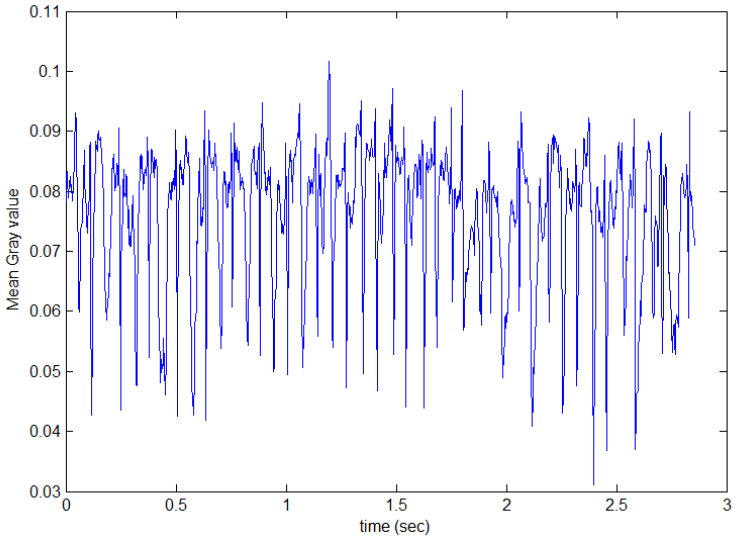


Résultats de la kymographie

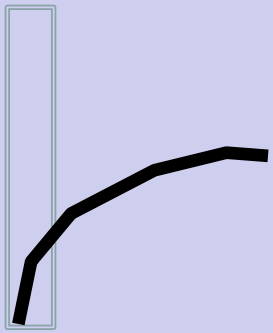


Principes et résultats de la FFT

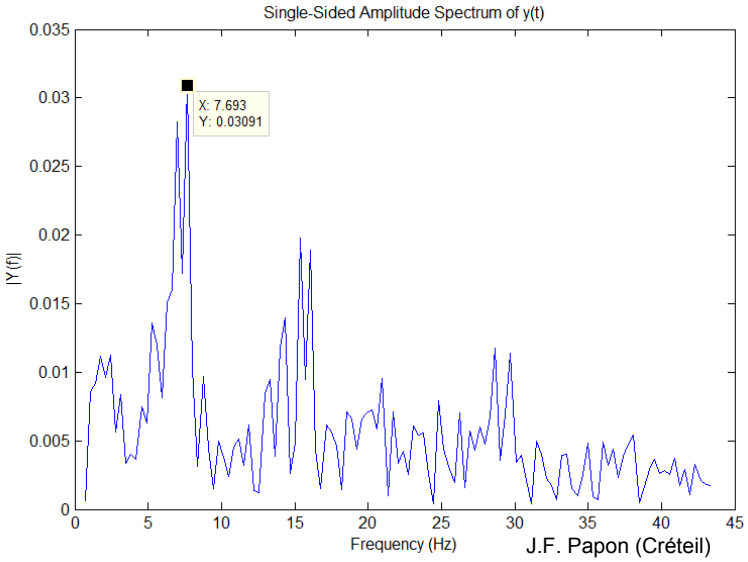




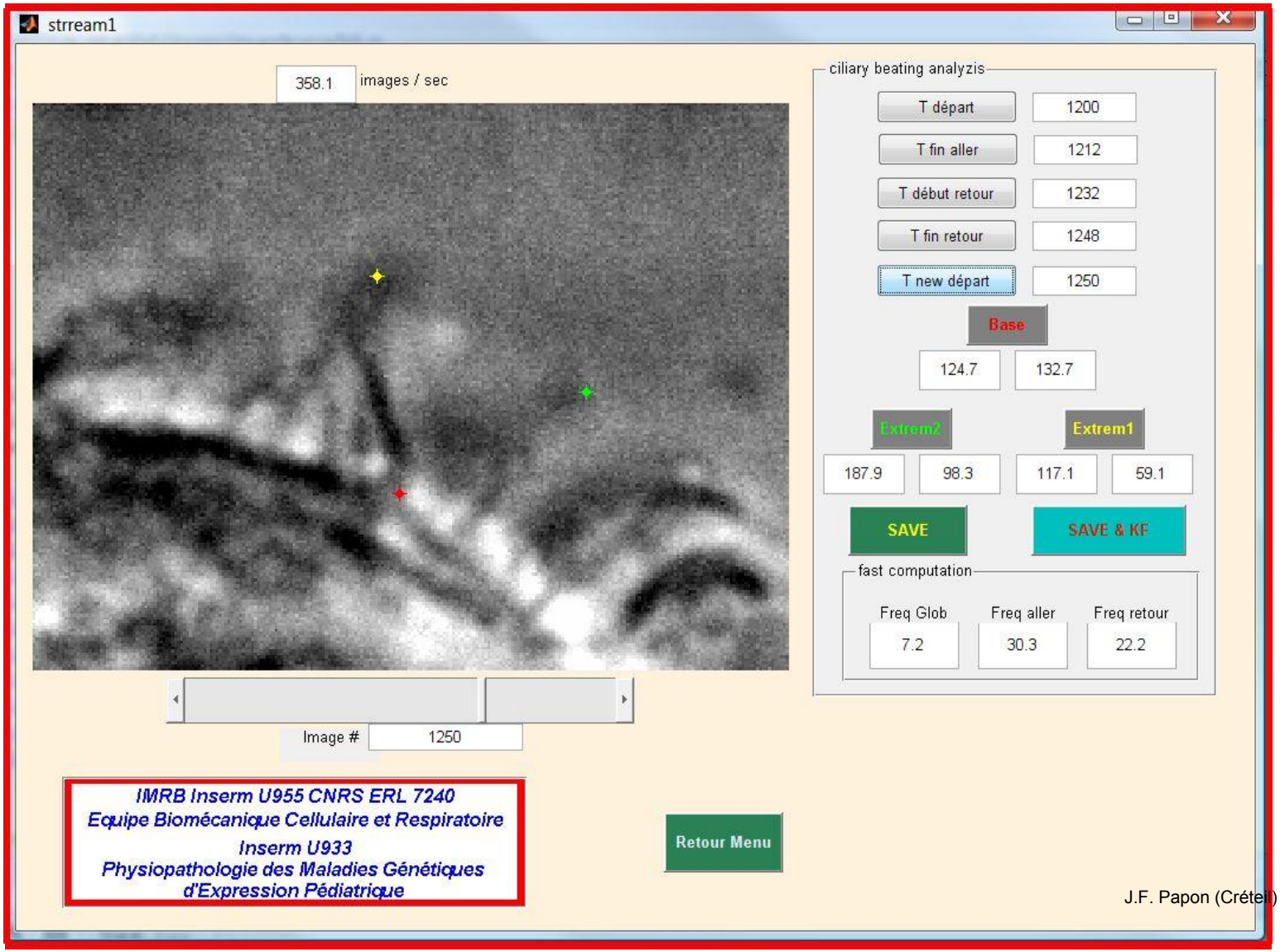
Niveau de gris:
Max



Niveau de gris:
Min

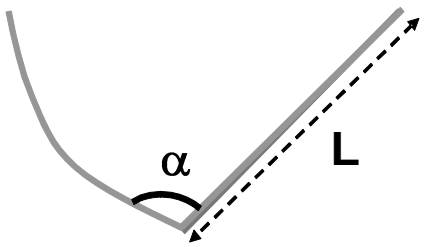


Analyse cinématique



A partir des mesures temporo-spatiales

8 paramètres simples



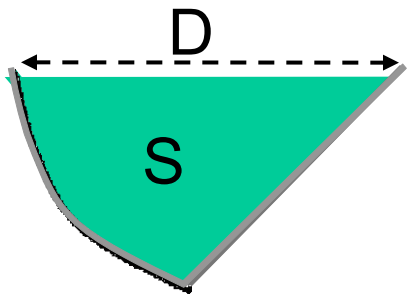
Longueur du cil (µm)

Angle de battement (°)

Fréquences (Hz) (globale, phases active et passive)

Pauses (ms) (globale, aller et retour)

4 paramètres complexes



Distance parcourue par sec (µm)

sans et avec pondération par % de c. battantes

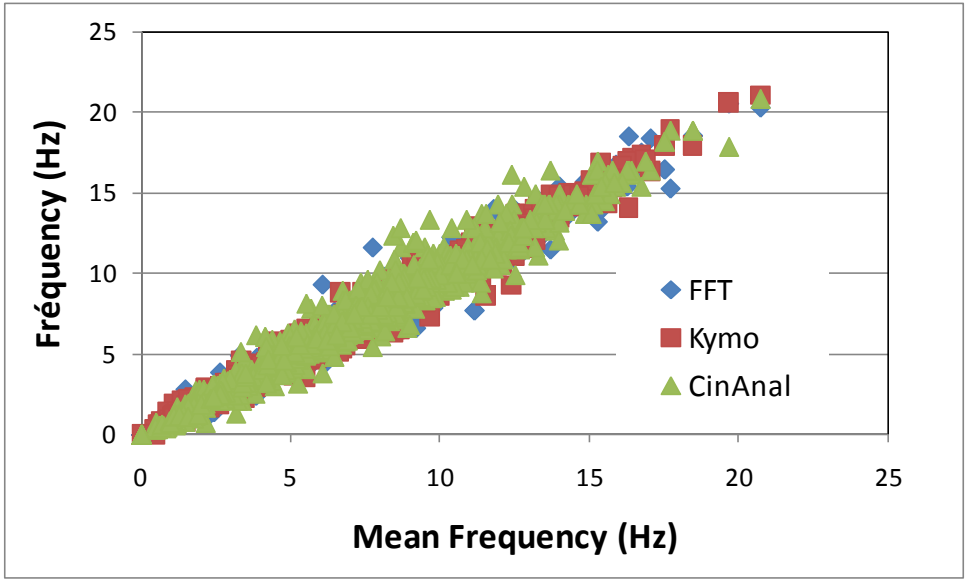
Surface couverte par sec (µm²)

sans et avec pondération par % de c. battantes

J.F. Papon (Créteil)

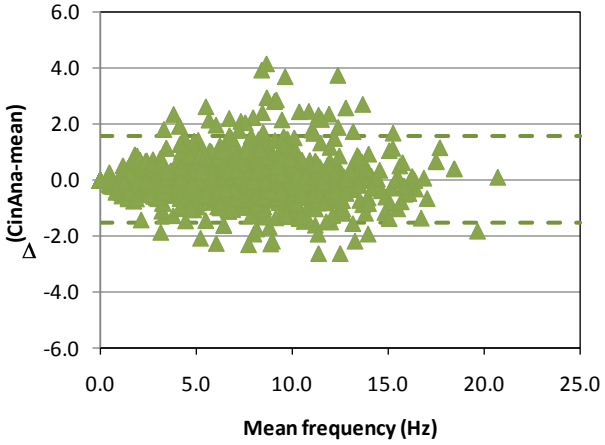
Papon et al. Orphanet J Rare Dis 2012

Corrélation entre les trois analyses

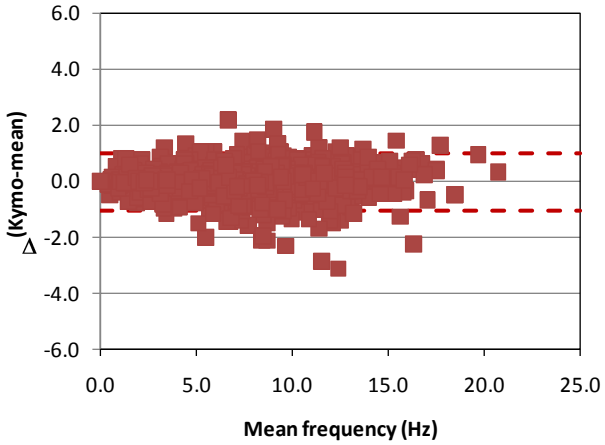


n = 1133

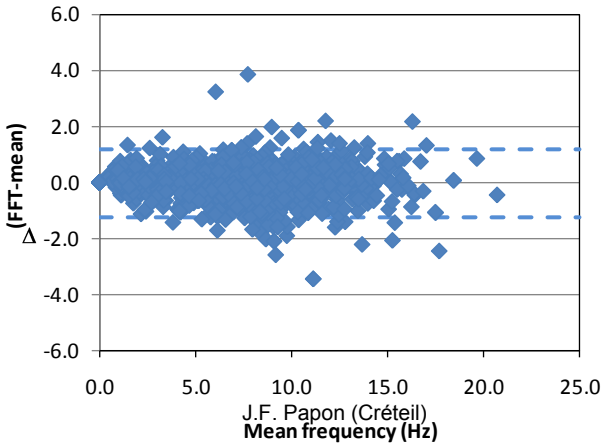
Cinematique



Kymographie



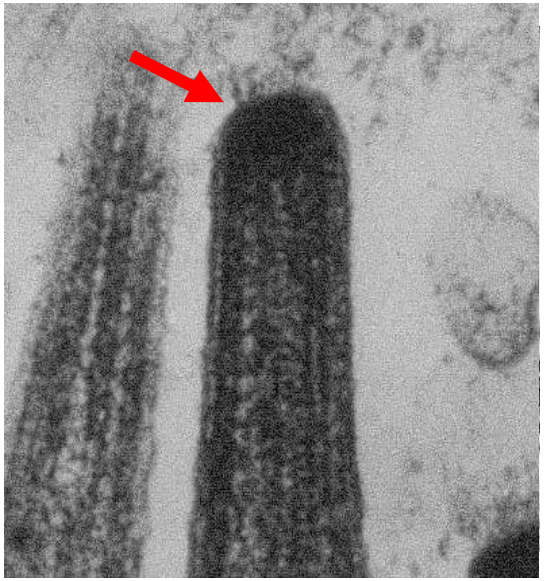
FFT



Analyse ultrastructurale: microscopie électronique à transmission

- **Prélèvements: biopsie (curetage)**

Analyse



✓quantitative (%)

✓anomalie dominante

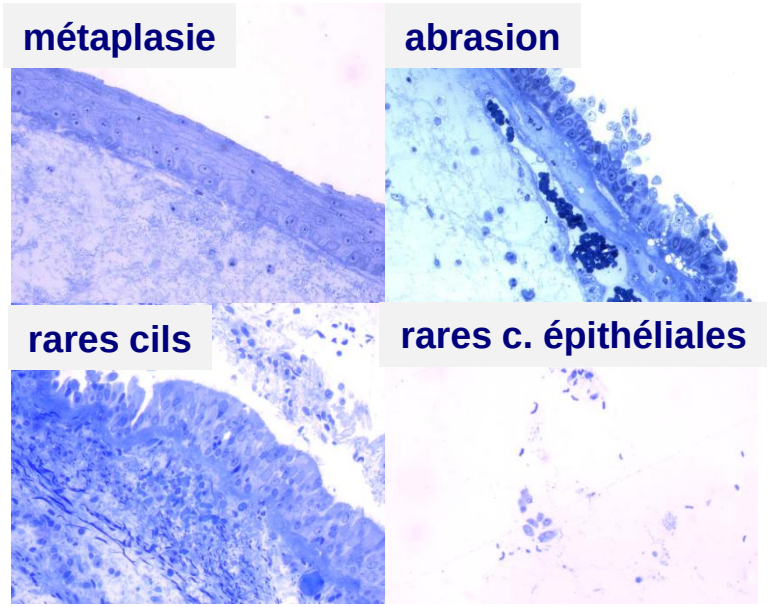
✓orientation, extrêmité

>30 coupes axonémales

normal : < 15% cils anormaux

Limites

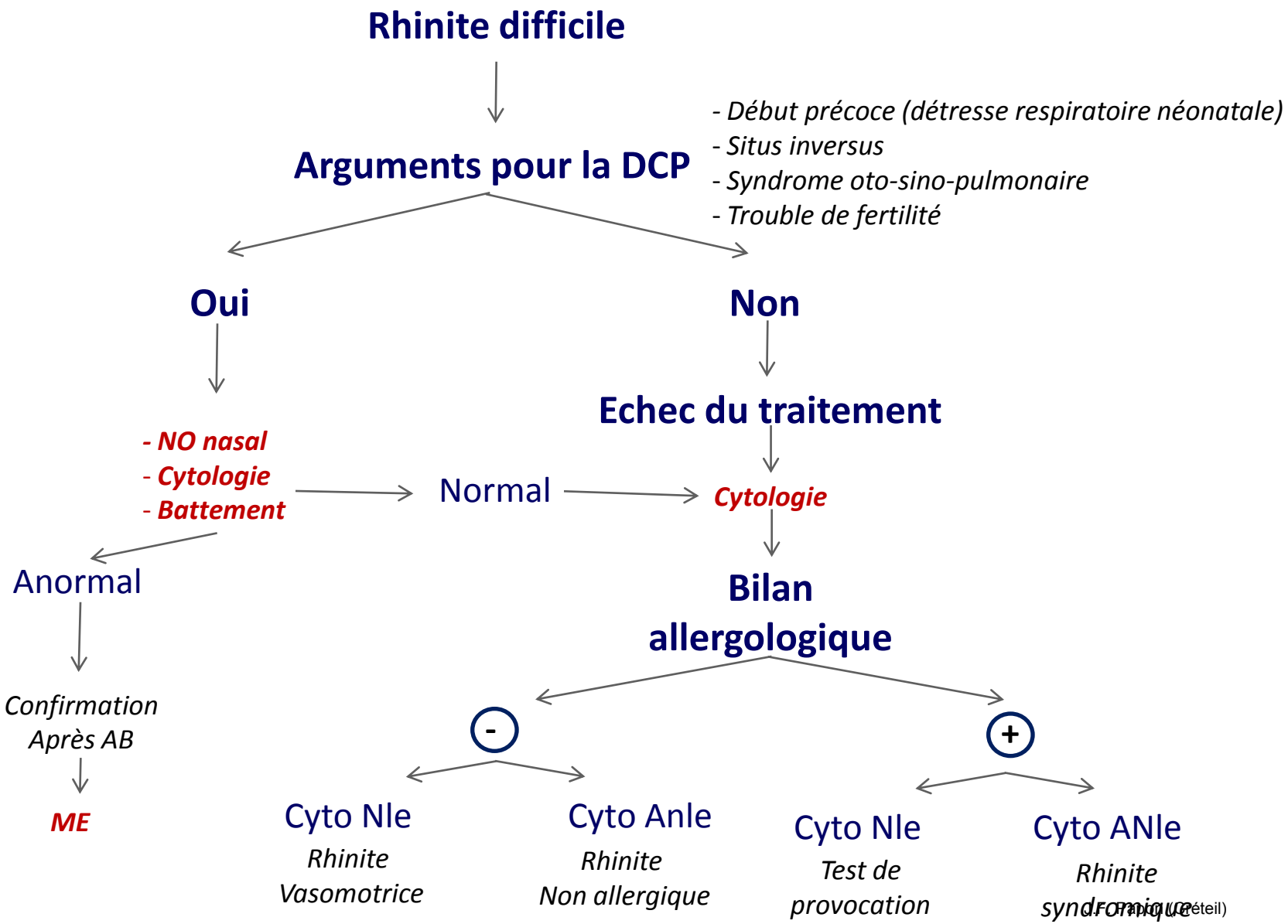
1/3 infaisables



J.F. Papon (Créteil)

Papon et al. ERJ 2010

Place des explorations cytologiques et ciliaires



Rhinite difficile

↓

Arguments pour la DCP

- *Début précoce (détresse respiratoire néonatale)*
- *Situs inversus*
- *Syndrome oto-sino-pulmonaire*
- *Trouble de fertilité*

Oui

- ***NO nasal***
- ***Cytologie***
- ***Battement***

→ Normal → ***Cytologie***

Anormal

↓

Confirmation Après AB

↓

ME

Non

↓

Echec du traitement

↓

Cytologie

↓

Bilan allergologique

- (-)
  - Cyto Nle — *Rhinite Vasomotrice*
  - Cyto Anle — *Rhinite Non allergique*
- (+)
  - Cyto Nle — *Test de provocation*
  - Cyto ANle — *Rhinite syndromique*

J.F. Papon (Créteil)

Inserm U955 & UERL 7240

CHU H Mondor, Créteil

Daniel Isabey

Bruno Louis

Marcel Filoche

Gabriel Pelle

U.F. de Génétique moléculaire & Inserm U933

Hôpital Armand Trousseau, Paris

Estelle Escudier

Serge Amselem

Sce d'ORL, CHIC et Mondor, Créteil

André Coste

Virginie Prulière-Escabasse

Lydia Brugel-Ribère

Anne Gauthier

Héloïse de Kermadec

Centre de Référence des Maladies Respiratoires Rares

Annick Clement

Microscopie électronique CHIC, Créteil

Issam Abd Alsamad

Anne-Marie Vojtek

Congrès Européen d'Allergologie

et tous les cliniciens qui nous adressent les patients

Laurence Bassinet

Marc Humbert

Gilles Garcia

Bruno Crestani

Camille Taillé

Ralph Epaud

Bruno Housset

Raphael Borie

Nadia Nathan

Aline Tamalet

☎ 01 49 81 22 25

Jean-francois.papon@hmn.aphp.fr

J.F. Papon (Créteil)