



UNIVERSITE DU DROIT ET DE LA SANTE - LILLE 2
FACULTE DE MEDECINE HENRI WAREMBOURG
Année : 2018

THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN MEDECINE

**APPORT DE LA C-REACTIVE PROTEIN DANS LES DIAGNOSTICS
DIFFERENTIELS DES MALADIES A EOSINOPHILES. ETUDE
MONOCENTRIQUE ET RETROSPECTIVE SUR 166 PATIENTS**

Présentée et soutenue publiquement le 28 mars 2018 à 18 heures
au Pôle Formation
Par Amélie Leurs

JURY

Président :

Monsieur le Professeur Pierre-Yves HATRON

Assesseurs :

Monsieur le Professeur David LAUNAY

Madame le Docteur Cécile CHENIVESSE

Monsieur le Docteur Jean-Emmanuel KAHN

Directeur de Thèse :

Monsieur le Docteur Guillaume LEFEVRE

AVERTISSEMENT

La Faculté n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses : celles-ci sont propres à leurs auteurs.

LISTE DES ABBREVIATIONS

ACR : American College of Rheumatology

ANCA: anticorps anticytoplasme des polynucléaires / antineutrophil cytoplasmic antibodies

Asth+ANCA+: patients with persistent asthma and positive MPO-ANCA assays

Asth+ANCA-: patients with persistent asthma and negative MPO-ANCA assays

Asth-ANCA-: asthma-free patients with negative MPO-ANCA assays

AUC : area under the curve

CEREO : Centre de référence national des Syndromes hyperéosinophiliques

CRP : C reactive protein

ELISA : enzyme-linked immunosorbent assay

ERS : European Respiratory Society

FIP1L1-PDGFR α : FIP1-like1–platelet-derived growth factor receptor alpha

GPA : Granulomatose avec Polyangéite / granulomatosis polyangiitis

GEPA : Granulomatose Eosinophilique avec Polyangéite / EGPA: eosinophilic granulomatosis with polyangiitis

GERMOP : Groupe d'Etudes et de Recherche sur les Maladies Orphelines Pulmonaires

HASM : hypereosinophilic asthma with systemic (non-vasculitic) manifestations

HE_N : hyperéosinophilie néoplasique/clonale/primitive

HE_R : hyperéosinophilie réactionnelle/secondaire

HE_{US} : hyperéosinophilie de signification indéterminée

IC 95% : Intervalle de confiance à 95 %

ICD10 : International Classification of Diseases, 10th Revision

Ig : Immunoglobuline

IL : interleukine

IQR : interquartile range

MPA : Polyangéite microscopique / microscopic polyangiitis

MPO : myeloperoxydase

ORL : oto-rhino-laryngologique

PNE : polynucléaire éosinophile

PPV : Valeur prédictive positive / positive predictive value

ROC : Receiver Operating Characteristic

RSC : rhino-sinusite chronique

Se : Sensibilité / Sensitivity

SHE : Syndrome Hyperéosinophilique / hypereosinophilic syndrome

Sp : Spécificité / Specificity

TCR : T-cell receptor

VS : vitesse de sédimentation

SOMMAIRE

AVERTISSEMENT	2
LISTE DES ABBREVIATIONS	4
I. Introduction générale	7
A. Généralités	7
B. Granulomatose éosinophilique avec polyangéite (GEPa)	9
C. Syndrome hyperéosinophilique (SHE)	14
D. Principales manifestations cliniques commune SHE-EGPA	19
E. C-reactive protein (CRP)	21
1. Généralités.....	21
2. Usage des marqueurs de l'inflammation au diagnostic dans l'EGPA et dans le SHE.....	22
F. Objectifs	23
II. Résumé du travail de thèse	24
III. Discussion générale	26
IV. Références générales	30
V. Annexes	39

I. Introduction générale

Le diagnostic différentiel entre Granulomatose Eosinophilique avec Polyangéite (EGPA) et Syndrome Hyperéosinophilique (SHE) est une problématique récurrente en pratique quotidienne. Ces pathologies, rentrant dans le spectre des maladies à éosinophiles, présentent de nombreuses caractéristiques communes dont l'atteinte pulmonaire. Il n'existe pas à ce jour, en dehors des anticorps anticytoplasme des polynucléaires (ANCA), de biomarqueur simple permettant de les différencier. Dans ce travail de thèse, nous nous sommes intéressés à la C-reactive protein (CRP) comme outil pouvant aider à distinguer la GEPA du SHE.

Nous allons tout d'abord vous présenter la GEPA puis le SHE, et poursuivre par la présentation de leurs manifestations cliniques communes. Nous présenterons ensuite brièvement en quoi la CRP nous paraissait un marqueur d'intérêt.

L'ensemble des données de ce travail de thèse sera résumé page numéro 24 et détaillé dans l'article page numéro 39.

A. Généralités

Il y a environ 120 ans, le polynucléaire éosinophile (PNE) était individualisé par Paul Ehrlich grâce à son affinité pour l'éosine. Cette cellule issue de la différenciation médullaire myéloïde dispose de granules préformés contenant de multiples protéines libérées en fonction des signaux reçus dans son microenvironnement (1). Le taux sanguin physiologique est compris entre 0.05 et 0.5 $\times 10^9/L$. L'hyperéosinophilie correspond à un taux supérieur à 0.5 $\times 10^9/L$. Sa sévérité a été divisée en 3 groupes selon son taux : faible (0.5 – 1.5 $\times 10^9/L$), moyenne (1.5 – 5 $\times 10^9/L$) et massive (supérieure à 5 $\times 10^9/L$). Elle peut être transitoire, épisodique ou persistante (2).

Historiquement, le PNE est associé à l'asthme, aux réactions allergiques et aux infections par certains parasites tels que les helminthes (1). Plus récemment, la meilleure compréhension des propriétés fonctionnelles du PNE a permis de lui attribuer de nombreuses fonctions en condition physiologique, notamment dans le remodelage tissulaire, mais également dans certains contextes pathologiques, où il peut avoir un rôle pro-inflammatoire, cytotoxique ou pro-fibrosant (3).

L'éosinophilopoïèse débute dans la moelle osseuse à partir de précurseurs cellulaires CD34+ sensibles à l'interleukine (IL)-5 (1). Les PNE matures migrent ensuite dans le sang périphérique où ils peuvent être recrutés dans les tissus sous l'influence des éotaxines et via les cellules endothéliales activées par de l'IL-4 (1). En fonction du microenvironnement local, les PNE sont par la suite activés et libèrent leurs protéines contenues dans les granules (différents médiateurs lipidiques, métabolites à oxygène et protéases) ainsi que leurs cytokines. Les stimuli pouvant activer les PNE sont nombreux et incluent la liaison aux récepteurs de l'immunoglobuline (Ig) tels que IgA et IgG, ainsi que les cytokines telles que l'IL-5, le Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, et l'IL-3 (1). Par différents processus de dégranulation sélective, les différentes protéines cationiques du PNE peuvent provoquer des dommages tissulaires. Par exemple dans l'asthme, ils sont tenus pour responsable, au moins en partie, de l'altération des cellules épithéliales bronchiques et des mouvements ciliaires ainsi que l'augmentation de la perméabilité vasculaire (1).

Plusieurs pathologies broncho-pulmonaires à composante « éosinophile » peuvent associer en proportions variables une hyperéosinophilie sanguine et/ou une dysfonction d'organe(s) induite par l'infiltration tissulaire des PNE (4). On peut citer

entres autres, le SHE, la GEPA (anciennement appelée maladie de Churg-Strauss), l'asthme hyperéosinophilique, la pneumopathie chronique idiopathique à éosinophiles. Parmi celles-ci, le SHE et la GEPA se caractérisent par la diversité des tableaux pouvant les révéler mais doivent être absolument différenciés en raison de leur gravité potentielle et des approches thérapeutiques différentes.

B. Granulomatose éosinophilique avec polyangéite (GEPA)

La GEPA est une vascularite touchant les vaisseaux de petits et moyens calibres associée aux anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles (ANCA) (5). Elle se différencie des autres vascularites à ANCA par la présence d'un asthme constant, d'une hyperéosinophilie et de la faible fréquence de détection des ANCA (5).

Evolution des critères diagnostiques :

Elle a été définie en 1951 par Churg and Strauss, qui a décrit les 13 premiers cas. Ceux-ci présentaient un asthme sévère, de la fièvre, une hyperéosinophilie, associés à des anomalies vasculaires et la présence d'un granulome pouvant être nécrosant (6). En 1977, la Mayo Clinic décrivait 30 cas supplémentaires présentant de façon constante un asthme et une vascularite systémique, décrite comme nécrosante touchant les artères et veines de petits calibres avec de nombreux éosinophiles au niveau de la paroi des vaisseaux et au niveau tissulaire en périvasculaire (7). Des critères de classification ont ensuite été établis par Lanham en 1984 à partir de 66 nouveaux cas et 138 cas de la littérature. Ils étaient constitués de la présence d'un asthme, d'une hyperéosinophilie maximale sanguine supérieure à $1.5 \times 10^9/L$ et d'une vascularite systémique avec un minimum de deux atteintes d'organes extra-pulmonaires (8).

Par la suite, les critères de l'American College of Rheumatology (ACR) étaient établis en 1990. Quatre sur 6 des critères étaient nécessaires à l'établissement du diagnostic de GEPA parmi : asthme (wheezing ou sibilants à l'expiration), hyperéosinophilie (supérieure à 10% du taux des leucocytes), antécédent d'une allergie ou d'une atopie, mononévrite ou polyneuropathie (attribuable à la vasculopathie), infiltrats pulmonaires transitoires et migrants à l'imagerie pulmonaire, anomalies sinusiennes et présence d'éosinophiles extravasculaire en histopathologie. Ces critères présentaient une sensibilité établie à 85% et une spécificité à 99.7% par rapport aux sujets contrôles (n=787) qui étaient atteints d'autres vascularites systémiques. Le choix de ce groupe contrôle explique en partie la difficulté diagnostique vis-à-vis d'autres maladies à éosinophiles comme le SHE. L'asthme n'était plus alors considéré comme obligatoire pour le diagnostic final, mais 19 patients (95%) de cette étude présentaient un asthme et ce critère restait comme le plus discriminant pour faire la différence avec les autres vascularites (9).

Les critères de Chapel Hill de 1994, révisés en 2012, sont les plus récents actuellement (5). Ils classent les différentes vascularites selon la taille du vaisseau touché par la maladie. La GEPA est donc répertoriée dans les vascularites granulomateuses, nécrosantes, touchant les vaisseaux de petits et moyens calibres, avec une association à l'asthme et une hyperéosinophilie. Le granulome est décrit comme riche en éosinophiles. La présence de polypes nasaux est signalée comme fréquente et les ANCA peuvent être positifs avec une spécificité type myéloperoxydase (MPO) de façon plus fréquente en cas de glomérulonéphrite associée. Les atteintes pulmonaire, myocardique et gastro-intestinale sont dites habituelles (5).

Epidémiologie :

Dans le cadre d'une étude française de 2004, la GEPA représente une incidence de 11,7 nouveaux cas par an (intervalle de confiance à 95% [IC 95%] 5-19) et une prévalence de 10.7 par million d'habitants (IC 95% 5-17) (10). Une étude du Royaume-Unis retrouve une incidence comprise entre 1.3 et 6.8 de cas par million d'habitants par an (11).

L'âge au diagnostic se fait aux alentours de 50 ans et le sexe ratio retrouve une faible majorité d'hommes (sexe ratio entre 1,08 et 1,18) (12,13).

Les ANCA, le biomarqueur de la GEPA

Le seul biomarqueur pouvant aider au diagnostic différentiel de la GEPA vis-à-vis d'autres maladies à éosinophiles, est la recherche d'ANCA. La présence d'ANCA positifs, avec une spécificité de type MPO (et rarement protéinase-3), chez un patient asthmatique et hyperéosinophilique, est reconnue comme un marqueur diagnostique indiscutable. La MPO est un hème contenant de la peroxydase dans les granules azurophiles des neutrophiles correspondant à une protéine microbienne capable de générer de l'acide hypochloré (14). Malheureusement, les ANCA dans la GEPA ne sont décrits que dans 30 à 40% des cas environ (9,12,13,15,16).

D'un point de vue physiopathologique, la présence de ces anticorps semble pathogène mais on peut retrouver le même phénotype clinique chez un patient ANCA négatifs (17). Un modèle murin montre que le transfert de splénocytes d'une souris MPO déficiente, immunisée avec une MPO murine déclenche le développement d'une vascularite, plutôt de type polyangéite microscopique (MPA), avec l'apparition d'une glomérulonéphrite et d'une capillarite pulmonaire (18). Il a été également rapporté le cas d'une patiente atteinte d'une vascularite à ANCA avec une spécificité MPO ayant donné naissance à un enfant présentant une vascularite néonatale (19).

Plusieurs auteurs ont décrit un phénotype clinique différent entre les patients selon la présence ou non d'ANCA (17,20–22). En effet, les patients présentant des ANCA positifs ont statistiquement plus de purpura, d'hémorragie alvéolaire, de mononévrite multiple et de glomérulonéphrite rapidement progressive mais, moins d'atteinte cardiaque et pulmonaire (13,15,23). Au niveau histologique, les patients avec des ANCA négatifs présentent préférentiellement une infiltration éosinophilique tissulaire périvasculaire avec une fréquence de 58.8% (versus 13,8%, $p < 0,001$) alors que les patients ANCA positifs présentent plutôt un aspect de capillarite et de vascularite nécrosante avec une fréquence à 75.9% (versus 32,4%, $p < 0,001$) (15).

Nouvelle définition de la vascularite et de la GEPA :

Très récemment, le Groupe d'Etudes et de Recherche sur les Maladies Orphelines Pulmonaires (GERMOP) et l'European Respiratory Society (ERS) ont proposé de distinguer pour la première fois les patients GEPA en fonction de la présence ou non d'une vascularite, des ANCA, et/ou d'une mononévrite multiple (16). Cette étude rétrospective de 157 patients propose que les patients ne présentant pas d'arguments pour une vascularite soient désormais classés en asthme hyperéosinophilique avec manifestations systémiques non vascularitiques (HASM, soit « hypereosinophilic asthma with systemic (non vasculitic) manifestations »). Ceux présentant une vascularite systémique peuvent donc être classés en EGPA.

La vascularite y est définie en cas de présence d'au moins 1 des critères suivant :

(1) Vascularite définie (« Definite vasculitis »): vascularite nécrosante histologiquement prouvée quel que soit l'organe biopsié, glomérulonéphrite nécrosante ou glomérulonéphrite à croissant (histologiquement prouvée), hémorragie

alvéolaire (définie comme un retour sanglant au lavage broncho-alvéolaire avec des opacités compatibles à l'imagerie), purpura palpable, infarctus du myocarde sur une coronarite prouvée (en relation avec la maladie systémique, par exemple une sténose coronarienne non athéromateuse visible en coronarographie ou un infarctus du myocarde sans athérosclérose coronarienne retrouvée).

(2) Critères substitutifs évocateurs de vascularite (« Strong surrogate of vasculitis ») : hématurie avec des cylindres ou $\geq 10\%$ d'érythrocytes dysmorphiques OU, hématurie accompagnée d'une protéinurie à 2 croix à la bandelette urinaire (en relation avec la maladie systémique, sans preuve histologique) ET, toute(s) manifestation(s) d'atteinte d'organe(s) autre qu'oto-rhino-laryngologique (ORL) ou broncho-pulmonaire associée à une biopsie présentant une capillarite leucocytoclasique et/ou une infiltration à éosinophile de la paroi artérielle

(3) Présence d'une mononévrite multiple

(4) Présence d'ANCA avec la méthode enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) avec au moins une manifestation hors pulmonaire et hors ORL, en rapport avec la maladie systémique.

L'HASM est quant à elle définie par la présence :

(1) d'un asthme et,

(2) d'une éosinophilie sanguine supérieure à $1,5 \times 10^9/L$ et,

(3) de toute manifestation(s) systémique(s) » (au moins une atteinte d'organe extra-pulmonaire et extra-ORL), autre(s) que celles définies par les critères de vascularite ci-dessus (« Definite vasculitis », « Strong surrogate of vasculitis », ...) et directement attribuable(s) à la maladie systémique.

(4) ANCA négatifs

Cette nouvelle classification permet essentiellement de classer plus facilement les malades présentant un asthme hyperéosinophilique avec atteinte systémique, mais le diagnostic de SHE n'a malheureusement pas été évoqué par les auteurs.

C. Syndrome hyperéosinophilique (SHE)

Le concept de SHE était introduit par Hardy et Anderson en 1968 (24), puis, Chusid et al. proposait pour la première fois des critères diagnostiques en 1975 (25).

Evolution des critères diagnostiques :

Chusid et al., en 1975, à partir de 14 cas et 57 cas basés sur revue de la littérature, définissait des critères diagnostiques pour le SHE : persistance d'une hyperéosinophilie supérieure ou égale à $1,5 \times 10^9/L$ pendant une durée minimale de 6 mois (ou décès avant 6 mois associé à des signes et des symptômes pour une maladie hyperéosinophilique), absence de toutes autres causes pouvant donner une hyperéosinophilie et, présence de signes ou de symptômes présument d'une atteinte d'organe (dont une hépatosplénomégalie, une dysfonction cardiaque, une atteinte du système nerveux central focale ou diffuse, une fibrose pulmonaire, de la fièvre, une perte de poids ou une anémie) (25).

Avec les nouvelles données moléculaires à disposition, Roufosse et al. proposait en 2006, que les patients remplissant les critères de Chusid et al. soient séparés après bilan complet (dosage IgE, vitamine B12, phénotypage lymphocytaire, analyse du réarrangement du TCR [T-cell receptor], tryptase, gène de fusion FIP1L1-PDGFR α [FIP1-like1–platelet-derived growth factor receptor α], échographie cardiaque et abdominale ...), soit en SHE myéloïde, soit en SHE lymphoïde ou en SHE idiopathique (en cas d'absence de variant myéloïde ou lymphoïde retrouvé) (26). La recherche de

clone myéloïde était encore assez spéculative en pratique quotidienne, la mutation du gène de fusion FIP1L1-PDGFR α (encodage d'une protéine constitutive d'une activité tyrosine kinase) étant découverte quelques années plus tôt. Klion et al. proposait auparavant de définir le SHE myéloïde par la présence d'au moins 4 des critères suivant : présence d'éosinophiles dysplasiques, augmentation du taux de vitamine B12 plasmatique, augmentation du taux de tryptase plasmatique, anémie/thrombopénie, hépatosplénomégalie, hypercellularité avec augmentation de la proportion de cellules immatures dans la moelle osseuse, myélofibrose, et enfin, cellules mastocytaires dysplasiques dans la moelle osseuse (27). Concernant les variants lymphoïdes, ils étaient définis comme des lymphocytes T clonaux (sans expansion dite maligne) capables de produire de l'IL-5, comme par exemple la population CD3-CD4+ ou CD3+CD4-CD8- (26).

Dans le même temps, l'*Hypereosinophilic Diseases Working Group of the International Eosinophil Society* souhaitait différencier l'ensemble des SHE par un nouvel algorithme de classification (28). En plus du SHE lymphoïde et myéloïde, étaient incorporés, le SHE familial, le SHE « non défini » soit bénin (asymptomatique, absence d'atteinte d'organe), soit complexe (atteintes d'organes sans variant lymphoïde ou myéloïde mis en évidence [défini comme idiopathique auparavant]), soit épisodique (angioedème cyclique), puis le SHE avec chevauchement correspondant à une atteinte restreinte à un seul organe (gastroentérite à éosinophiles, pneumopathie à éosinophiles...), et enfin le SHE dit « associé » à une autre pathologie distincte (GEPA, mastocytose systémique, sarcoïdose...) (28).

Enfin, avec l'évolution de nouveaux mécanismes moléculaires et immunologiques, il était décidé d'établir un consensus sur de nouveaux critères avec l'appui d'experts. Cette dernière classification consensuelle distingue plus clairement la notion

d'hyperéosinophilie (sanguine et/ou tissulaire) asymptomatique. (2). Le terme hyperéosinophilie (HE) doit être utilisé en cas d'éosinophilie sanguine persistante supérieure à $1,5 \times 10^9/L$, et/ou en cas d'éosinophilie tissulaire. La notion de « persistante » correspond à l'enregistrement de l'hyperéosinophilie à 2 occasions dans un intervalle de temps de 4 semaines minimum (à l'exception d'une urgence thérapeutique). Le critère de l'« infiltration tissulaire » est rempli quand soit le pourcentage des éosinophiles dans la section de biopsie ostéo-médullaire excède 20% des cellules nucléées ; soit l'infiltration par les éosinophiles est considérée par l'anatomopathologiste comme massive ; soit par l'existence d'arguments pour une activation éosinophilique (par exemple : dépôts de protéines provenant des granules au niveau tissulaire). Le syndrome hyperéosinophilique (SHE) est défini par une hyperéosinophilie (sanguine et/ou tissulaire, telle que précédemment décrit) ET une dysfonction d'organe(s) attribuable au PNE après exclusion de toutes autres pathologies pouvant expliquer les anomalies. Le critère de l'atteinte d'organe reprend les critères d'infiltration tissulaire décrits précédemment et au moins un des critères suivants : (1) fibrose (pulmonaire, cardiaque, digestive, cutanée...); (2) thrombose avec ou sans embolie; (3) érythème cutané (incluant les muqueuses), angioedème, ulcération, prurit, et eczéma; et enfin (4) neuropathie centrale ou périphérique avec un déficit chronique ou récurrent. Il est à noter que le SHE peut concerner 1 ou plusieurs organes. Ensuite, l'hyperéosinophilie peut être divisée en plusieurs types selon le mécanisme physiopathologique identifié ou supposé : héréditaire/familiale, néoplasique/clonale/primitive (HE_N), réactionnelle/secondaire (HE_R) ou, de signification indéterminée (HE_{US}) (2).

Epidémiologie :

Chusid et al. retrouvait un pic d'incidence aux alentours de 41-50 ans, avec une prédominance franche masculine (91%) (25). Par la suite, deux études décrivaient un âge au diagnostic plutôt aux alentours de la trentaine (29,30). Une étude plus récente américaine établissait une incidence ajustée sur l'âge à 0,036 pour 100.000 nouveaux cas par an (IC 95%, 0,030–0,042/100.000), une prédominance masculine avec un sexe ratio à 1,47 et un âge médian au diagnostic à 52,5 ans avec un pic d'incidence entre 65 et 74 ans (31). La cohorte internationale des SHE notait également une prédominance masculine mais plus discrète avec un sexe ratio de 1.24 et un âge médian à 45 ans (IC 95% 6-85 ans) (32). La prévalence de la mutation du gène de fusion FIP1L1-PDGFR α était établie aux alentours de 10% (32,33).

HE_{US} :

Les patients atteints d'HE_{US} présentent une hyperéosinophilie persistante, inexplicée et asymptomatique (2). Il n'existe pas encore de marqueur prédictif du risque d'apparition d'une atteinte d'organe et donc d'évolution vers un SHE. Une étude récente de 8 patients (3.8%) sur 210 sujets, présentant une HE_{US} suivis pendant de nombreuses années (jusque 31 ans), était plutôt en faveur d'un bon pronostic. Il n'avait pas été retrouvé de biomarqueurs pour différencier ces patients HE_{US} de patients SHE (34), mais la pratique montre qu'une HE peut précéder de nombreuses années l'apparition des premiers symptômes de SHE. Une étude rétrospective polonaise a recueilli les données de 40 patients atteints d'HE_{US}. L'âge médian au diagnostic était de 61 ans (IC 95% à 17 - 85), 40% des patients avaient un taux de PNE supérieur à 3 X10⁹/L. La médiane de suivi était seulement de 55 mois et 1 seul patient présentait finalement un SHE avec dysfonction cardiaque (à 11 ans de suivi) (35).

HE_R :

Ce diagnostic représente toutes les pathologies dans lesquelles l'hyperéosinophilie est considérée comme non clonale et proviendrait d'une réponse induite par des cytokines de type Th-2 surtout représentées par l'IL-5 (2), notamment certaines infections parasitaires, toxidermies, maladies auto-immunes, ou cancers... Il est important de comprendre que d'autres cellules que le PNE peuvent être clonales et produire de l'IL-5, comme par exemple certains lymphocytes T, les cellules de Reed-Steinberg de la maladie de Hodgkin, les cellules carcinomateuses, ou les cellules mastocytaires... Par ailleurs, le SHE dit « lymphoïde », qui est un syndrome lymphoprolifératif indolent, est également classé dans ce sous-groupe (2).

HE_N :

Le SHE_N est défini comme toute hyperéosinophilie avec un réarrangement de platelet-derived growth factor receptor α , β , fibroblast growth factor receptor ou une translocation pericentriolar material 1–Janus-activated kinase 2. Le diagnostic d'HE_N englobe également le large spectre des hémopathies myéloïdes définis par la World Health Organization comme par exemple la leucémie myéloïde chronique Breakpoint Cluster Region–Abelson 1 positif, le syndrome myéloprolifératif muté pour Janus-activated kinase 2, la mastocytose systémique mutée pour le gène KIT D816V+, la leucémie aiguë myéloïde associée au gène de fusion Core binding factor β , les syndromes myélodysplasiques associés à une hyperéosinophilie... (4).

Il existe un dernier sous-groupe rentrant dans la catégorie du SHE_N, composé de patients atteints de leucémie chronique à éosinophiles malgré l'absence de mutations génétiques décrites précédemment, l'absence de caractéristiques moléculaires ou cytologiques pour une leucémie aiguë myéloïde, mais, la présence d'une anomalie

cytogénétique clonale non spécifique, une anomalie moléculaire (Ten-eleven-translocation 2, Additional Sex Combs Like 1, IDH2, Splicing Factor 3b Subunit 1) ou, d'une blastose supérieure à 2% dans le sang et 5% dans la moelle osseuse (4).

HE_I :

Lorsqu'un patient remplit les critères de SHE mais ne répond pas aux définitions des SHE_R ou SHE_N, le diagnostic de SHE idiopathique (SHE_I) peut être retenu. Dans une cohorte américaine de 302 sujets, plus de 50% des SHE remplissent les critères pour ce diagnostic (36).

D. Principales manifestations cliniques commune SHE-EGPA

Dans les différentes études concernant la GEPA, l'asthme est systématiquement rapporté chez plus de 90% des cas (6–9,13,15,16). C'est un asthme atypique, d'apparition tardive à l'âge adulte et précédant quasi systématiquement le développement de la vascularite (8). Au moment du diagnostic de la GEPA, les patients peuvent présenter soit une rémission de leur asthme, soit une exacerbation sévère. Mais, il apparaît tout de même souvent comme le problème clinique majeur une fois le diagnostic posé, nécessitant un traitement par corticostéroïdes par voie systémique prolongée (8). Sur le plan pulmonaire, les patients présentent également des infiltrats décrits comme transitoires, symétriques, sans distribution lobaire ou segmentaire, et pouvant parfois se présenter comme ceux de la pneumopathie chronique à éosinophiles (8). Ils sont décrits jusqu'à 72% (8,13,37,38). On note ensuite la présence plus rare d'épanchements pleuraux (entre 8.9% et 29% selon les études) et d'hémorragies alvéolaires (aux alentours de 4% en général) (8,13,15,16,37).

Une atteinte pulmonaire dans le SHE est décrite entre 15 et 63% des cas (25,32,39–41). Les symptomatologies les plus souvent rapportées comprennent dyspnée, toux, wheezing, épanchements pleuraux et infiltrats parenchymateux interstitiels (25,32,40,41). La toux est souvent dite chronique et est décrite entre 26% et 40% des cas (32,41). Les épanchements pleuraux sont plus souvent rapportés dans les premières études compte tenu d'une atteinte cardiaque plus fréquente à cette époque (25). Ils ne sont présents actuellement qu'entre 2 et 14% des cas, avec la notion d'éosinophiles nombreux dans les ponctions quand elles sont réalisées (32,40). Les infiltrats pulmonaires sont décrits dans environ 30% des cas (25,40) et apparaîtraient plutôt au moment de l'aggravation de la maladie sans argument pour une étiologie infectieuse (25). L'autre atteinte décrite dans le SHE est l'asthme (32,39,40). Cette symptomatologie est présente dans 11% des cas dans la cohorte internationale et chez 27% des patients dans la cohorte de la Mayo Clinic (32,40). Les SHE peuvent également présenter une histoire allergique (eczéma, asthme allergique, rhino-sinusite chronique [RSC]) (39).

Weller et al. décrit l'atteinte pulmonaire du SHE comme hétérogène avec par exemple certains patients présentant des infiltrats pulmonaires pouvant être confondus avec un syndrome de Löffler ou d'autres patients présentant également des bronchospasmes, pouvant rendre le diagnostic de SHE complexe (41). Plusieurs patients présentaient également une évolution de leur atteinte pulmonaire vers une fibrose, se rapprochant sur le plan conceptuel de l'atteinte cardiaque (41).

Sur le plan des vascularites dans les SHE, dans la série princeps de Chusid et al., il était retrouvé au niveau histopathologique des infiltrats éosinophiliques périvasculaire avec la présence de microthrombi dans les vaisseaux de petits calibres et quelques

vascularites étaient également décrites (25). On note de multiples observations de patients avec une hyperéosinophilie et une symptomatologie de vascularite à éosinophiles mais sans le profil habituellement retrouvé de la GEPA. Ces cas sont constitués de vascularites cutanées récurrentes, de vascularites médicamenteuses, de nécroses digitales et/ou de thromboses artérielles en relation avec une vascularite (cf. données supplémentaires de l'article en annexe). De plus, quelques cas de vascularites à éosinophiles ont également été rapportés pour certaines autres maladies à éosinophiles comme la myosite à éosinophile ou la pneumopathie chronique idiopathique à éosinophiles (42,43).

E. C-reactive protein (CRP)

1. Généralités

La CRP a été découverte par Tillet et Francis en 1930, chez des patients présentant une pneumopathie infectieuse à pneumocoque, chez qui il a été découvert qu'elle interagissait avec le C-polysaccharide de la paroi cellulaire du streptococcus pneumoniae, d'où le terme C-reactive protein (CRP). C'est un réactif non spécifique de la phase aiguë inflammatoire, membre de la famille des pentraxines, qui reconnaissent des motifs moléculaires conservés (pattern recognition receptors). Elles font partie intégrante du système immunitaire inné et permettent de guider l'activation des voies effectrices humorales et cellulaires (44). Son rôle majeur est la reconnaissance et l'élimination de certains pathogènes ainsi que l'aide dans la clairance des corps et des cellules apoptotiques (45). La CRP est produite par le foie en réponse à une inflammation ou à une lésion tissulaire et son élévation est proportionnelle aux taux des cytokines inflammatoires comme l'IL-6, l'IL-1, le transforming growth factor β et le Tumor necrosis factor α (44,46,47). La CRP partage des propriétés fonctionnelles similaires avec les Ig, telles que la capacité à favoriser l'agglutination, la fixation du

complément, la phagocytose et la précipitation des composés polycationiques et polyanioniques (48). Elle sert actuellement, de façon non spécifique, à monitorer les conditions inflammatoires dans les infections, les traumatismes, les ischémies, les cancers, les arthrites et les maladies auto-immunes systémiques (49). Après le début de la réponse inflammatoire, elle croît à partir de 4 à 6 heures et double toutes les 8 heures avec un pic en général entre 36 et 50 heures (47). Compte tenu de sa faible demi-vie, sa concentration plasmatique dépend seulement de son taux de synthèse hépatique (47). A l'inverse, la vitesse de sédimentation (VS), autre indicateur de la réponse inflammatoire, ne se modifie que beaucoup plus lentement, en augmentant seulement à partir de 24-48 heures du début de l'inflammation et peut prendre jusqu'à plusieurs semaines pour se normaliser (49). Son taux peut être faussement modifié par l'anémie, la polyglobulie, les hémoglobinopathies, et toutes les causes de changements de ratio entre les différentes protéines plasmatiques (âge, grossesse...) (47,49). La VS n'a donc aujourd'hui que peu d'intérêt au regard des performances de la CRP.

2. Usage des marqueurs de l'inflammation au diagnostic dans l'EGPA et dans le SHE

Dans le SHE :

Il n'existe que très peu d'études, à notre connaissance, dans le SHE, ayant décrit les marqueurs d'inflammation dans les caractéristiques biologiques.

On retient l'étude princeps de Chusid et al. ayant rapporté que 68% des patients présentaient une VS supérieure à 15mm/h (25). Il est difficile de retenir ce taux comme fiable compte tenu de nombreux facteurs confondants, les patients présentant pour la plupart une hémopathie évoluée.

Il n'existe aucune donnée sur la CRP en dehors d'une étude qui a essayé de distinguer la GEPA du SHE chez 67 patients par plusieurs biomarqueurs, dont les marqueurs de l'inflammation (50). Il n'a pas été retrouvé de différence significative entre les différents groupes (médiane de CRP comprise entre 0,7 et 2,9 mg/L) compte tenu des faibles effectifs et compte tenu de la présence de 60% de patients prenant des corticostéroïdes au moment de l'évaluation initiale (50).

Dans l'EGPA :

Quelques études rapportent la CRP ou la VS au diagnostic d'EGPA, mais elles restent tout de même en faible nombre. Eustace et al. déclare que les manifestations biologiques typiques de l'EGPA à la phase aigüe, comprennent une anémie normochrome normocytaire, une hyperleucocytose, et des taux élevés de VS et de CRP (51). Lanham et al. rapporte 16 cas d'EGPA avec des taux de VS, avant traitements, entre 42 et 115 mm à la première heure, avec une moyenne de 84mm. Sur les 16 cas, 3 présentent un taux mesuré de CRP, tous supérieurs à 70 mg/L (8). D'autres études retrouvent également des augmentations du taux de VS au diagnostic au-dessus de 50mm à la première heure (37,52) et du taux de CRP en moyenne 66.9 ± 61.8 mg/L (13). Aucune étude n'a démontré l'intérêt de ces marqueurs inflammatoires comme biomarqueur d'activité ou prédictif de rechute de la maladie (53).

F. Objectifs

L'ensemble des maladies à éosinophiles, présenté en amont, est hétérogène avec plusieurs maladies pour lesquelles le diagnostic final peut être complexe à porter, avec des conséquences thérapeutiques pouvant être lourdes pour le patient. Aucune étude, n'a pour l'instant comparé les caractéristiques clinico-biologique du SHE, du GEPA et

des autres maladies à éosinophiles. Les deux pathologies les plus difficiles à distinguer, en cas de négativité des différents biomarqueurs diagnostiques actuellement disponibles, sont le SHE et la GEPA.

Afin de mieux répondre à la question, nous avons collecté l'ensemble des caractéristiques cliniques et biologiques de patients présentant (1) une éosinophilie sanguine (supérieure à $1 \times 10^9/L$ dans cette étude) et, (2) des ANCA positifs avec une spécificité MPO et/ou des manifestations en relation avec une infiltration éosinophilique tissulaire.

Nous avons concentré notre analyse sur les patients asthmatiques sans ANCA avec manifestations systémiques et les avons comparés en premier lieu aux patients asthmatiques avec ANCA positifs de type MPO et aux patients non asthmatiques avec manifestations systémiques. Nous avons également rapporté une série de plusieurs cas présentant une vascularite à éosinophiles chez des patients non-asthmatiques et sans profil de GEPA. Enfin, nous proposons l'apport de la CRP, comme un outil intéressant afin de différencier les patients SHE, des GEPA.

II. Résumé du travail de thèse

Contexte : Le diagnostic différentiel du SHE par rapport à la GEPA est difficile, surtout chez les patients présentant un asthme et des manifestations systémiques avec l'absence de positivité des ANCA.

Objectifs : Caractériser les patients présentant une hyperéosinophilie et des manifestations systémiques en fonction de leur statut asthme/ANCA et déterminer la valeur diagnostique de la CRP.

Méthodes: Dans cette étude rétrospective, observationnelle, monocentrique, nous avons examiné les données clinico-biologiques pour l'ensemble des patients avec (i) une éosinophilie plasmatique supérieure à $1 \times 10^9/L$, et (ii) des ANCA positifs et/ou des manifestations extra-pulmonaires liées à une infiltration éosinophilique tissulaire.

Résultats : Cent soixante-six patients ont été inclus et séparés en 3 groupes distincts : patients asthmatiques ANCA+ (Asth+ ANCA+, n=18), patients asthmatiques ANCA- (Asth+ ANCA-, n=65) et, patients non-asthmatiques ANCA- (Asth- ANCA-, n=83). Nous avons observé 10 cas de manifestations de vascularite chez des patients ne présentant pas d'asthme. Les taux médians de CRP chez les patients Asth+ ANCA +, Asth+ ANCA- et Asth- ANCA-, étaient respectivement de 76,5 mg/L [interquartile 23-131], de 35 mg/L [8-73] et de 3 mg/L [0-12]. En utilisant le groupe Asth+ ANCA+ comme référence pour le diagnostic de GEPA, et le groupe Asth-ANCA- comme référence pour le diagnostic de SHE, la valeur seuil de CRP optimale pour le diagnostic de SHE apparaissait être inférieure à 36 mg/L (sensibilité à 94,8% [87,2; 98,6]; spécificité à 93,7% [69,8; 99,8]). Le groupe Asth+ ANCA- avec une CRP inférieure à 36 mg/L présentaient moins de manifestations de vascularite que ceux avec une CRP supérieure au seuil de 36mg/L (20% contre 62%, respectivement, $p = 0,0010$), dont le purpura (3% vs. 28%, $p = 0,0122$) et la mononévrite multiple (7% contre 31%, $p = 0,0163$).

Conclusion: Chez les patients asthmatiques présentant une hyperéosinophilie et des manifestations systémiques, un faible taux de CRP sérique pourrait plutôt être en faveur d'un SHE plutôt que d'une GEPA.

III. Discussion générale

Comme le soulignait notre étude, la finalité diagnostique pour les patients ANCA négatifs, asthmatiques avec manifestations systémiques était complexe (54,55).

En premier lieu, pour éviter toutes erreurs de classement pour nos patients, nous choissions de les séparer en fonction de la présence/absence d'un asthme et des ANCA et non pas en fonction des critères de classification de la GEPA ou du SHE (compte tenu du chevauchement clinico-biologique explicité dans l'introduction générale). En effet, le chevauchement entre ces 2 pathologies était également mis en évidence dans notre étude surtout dans le groupe Asth+ANCA- car les patients pouvaient remplir les critères de GEPA comme de SHE. Nous nous sommes tout de même servi du groupe Asth+ANCA+ comme modèle diagnostique pour la GEPA (présence d'ANCA sans autre diagnostic différentiel possible) et le groupe Asth-ANCA- comme un modèle diagnostique pour le SHE (phénotypes identiques aux groupes décrits dans la littérature) (32).

Même si les patients de notre groupe modèle de SHE (Asth-ANCA-) ne présentaient pas d'asthme, il ne fallait pas considérer qu'avoir un asthme éliminait le diagnostic de SHE. En effet Il était rapporté à près de 11% dans la cohorte internationale (32), et à 27% dans un récent papier s'étant concentré sur l'atteinte pulmonaire du SHE (40). De ce fait, dans le groupe Asth+ANCA-, 52% des patients asthmatiques ne présentaient pas de manifestation de vascularite et rentraient donc dans les récents critères proposés par GERMOP/ERS (16). De par l'absence de vascularite, le diagnostic de SHE pouvait également se discuter chez ces patients.

Nous rapportions également que le fait d'avoir une vascularite ne devait pas conduire de façon systématique à un diagnostic de GEPA (10 cas SHE décrits dans notre étude), de même que la présence d'une mononévrite multiple. De plus, en réalisant

une revue de la littérature, on retrouvait de nombreux cas de vascularites à éosinophiles prouvées histologiquement, parfois nécrosantes chez des patients ne présentant pas de profil de GEPA. Puisque les éosinophiles activés pouvaient être toxiques pour les cellules endothéliales (56) et infiltrer la paroi des vaisseaux dans les organes atteints (57), nous pouvions supposer que les éosinophiles inducteurs de vascularites et les éosinophiles infiltrant les tissus pouvaient être tous les deux des mécanismes associés dans les différentes maladies à éosinophiles, incluant les patients GEPA et les non-GEPA.

Concernant la CRP, notre étude retrouvait des taux médians élevés à 76.5 mg/L [23-131] dans le groupe Asth+ ANCA+ (modèle de GEPA) et des taux faibles 3 mg/L [0-12] dans le groupe Asth- ANCA- (modèle de SHE). Ces taux étaient cohérents avec leurs groupes contrôles respectifs et les données de la littérature (13,58–61). Le groupe Asth+ ANCA- retrouvait un taux de CRP intermédiaire à 35 mg/L [8-73], montrant une nouvelle fois de plus son hétérogénéité. En comparant les caractéristiques cliniques des patients asthmatiques ANCA négatifs avec des taux de CRP bas et élevés (à partir des groupes modèles GEPA et SHE), nous réussissions à trouver un cut-off de 36 mg/L, considéré comme la meilleure valeur pour différencier les malades. En effet, si la CRP était inférieure à 36 mg/L (sensibilité à 94.8 [87.2; 98.6], spécificité à 93.7 [69.8;99.8], valeur prédictive positive à 98.6 [91.6;99.8]), le diagnostic était plutôt en faveur d'un SHE.

D'un point de vue physiopathologique, la GEPA comme le SHE, est caractérisée par une réponse lymphocytaire de type Th2 avec une production accrue d'IL-4, d'IL-5 et d'IL-13 (26,62). Dans la GEPA, une réponse Th1 et Th17 a aussi été mise en évidence (62,63). Dans une étude de 2009, les lymphocytes Th17, produisant de l'IL-17A et de l'IL-22, étaient plus fréquemment trouvés chez des patients ayant une GEPA en phase

active plutôt que chez des patients ayant un asthme + une pneumopathie chronique à éosinophiles avec des crises répétées ou, des patients souffrant d'asthme ou enfin, de GEPA inactive (64). Cette réponse Th1 et Th17 (profil inflammatoire) dans la GEPA pourrait potentiellement expliquer pourquoi la CRP est plus facilement retrouvée augmentée dans cette pathologie plutôt que dans le SHE.

Enfin, l'atteinte ORL est habituellement considérée comme une phase prodromique de l'histoire naturelle de la GEPA (8,65,66) et est même souvent décrite comme faisant partie intégrante du diagnostic de GEPA (5,8,9,51,67). Une étude italienne s'intéressait à la fréquence et aux caractéristiques de la RSC et de la polypose de 36 patients avec une GEPA étant tous traités au moment de l'étude (67). Il apparaît que 26% des patients présentaient une RSC sans polypose et que 46% présentaient une RSC avec polypose, l'incidence globale des manifestations ORL étant de 97.4% dans cette étude. Dans d'autres études, l'incidence paraissait plus faible (en général aux alentours de 70%) mais tout de même fluctuante (12,13,15,16,37). Dans notre étude rétrospective, les résultats étaient similaires pour les patients Asth+ ANCA+ et pour les patients Asth+ ANCA-. On notait dans le groupe de patients Asth-ANCA-(groupe modèle SHE) tout de même 23% de RSC et 8% de polypes. L'atteinte ORL est peu décrite dans le SHE. Dans la cohorte internationale des SHE, on notait 9% de sinusite et 2% de rhinite chronique. Dans une étude plus ancienne l'atteinte ORL était décrite à hauteur de 10% (29). Par ailleurs, de façon générale, une large majorité des asthmatiques (environ 88%), présente la mise en évidence d'une inflammation nasosinusienne sur leur imagerie, la RSC avec polypose étant estimée survenir chez 7% de tous les asthmatiques, alors que l'asthme est reporté chez 26-48% des patients avec une RSC avec polypose (68). Notre étude confirmait que les patients SHE pouvaient également présenter une atteinte ORL identique à celle de la GEPA, mais

avec une fréquence moindre. L'atteinte ORL dans le SHE et la GEPA pourrait être une piste pour des études ultérieures afin de poursuivre l'amélioration de la compréhension des maladies à éosinophiles.

En conclusion, notre revue de tous les cas suivis de 2006 à 2016 dans notre centre du CHRU de Lille, démontrait que la vascularite et la mononévrite pouvaient également être observées dans le SHE et pouvaient être ajoutées aux manifestations participant aux cas de chevauchement avec l'EGPA. Chez les patients asthmatiques ou non, avec hyperéosinophilie et avec manifestations systémiques, notre étude suggérait qu'un faible taux de CRP au moment du diagnostic est en faveur d'un diagnostic de SHE. Ce résultat, s'il est confirmé par des études prospectives, pourrait faciliter l'orientation diagnostique des différentes maladies à éosinophiles et aider à la décision de traitement.

IV. Références générales

1. Gleich GJ. Mechanisms of eosinophil-associated inflammation. *J Allergy Clin Immunol.* avr 2000;105(4):651-63.
2. Valent P, Klion AD, Horny H-P, Roufosse F, Gotlib J, Weller PF, et al. Contemporary consensus proposal on criteria and classification of eosinophilic disorders and related syndromes. *J Allergy Clin Immunol.* sept 2012;130(3):607-612.e9.
3. Lee JJ, Jacobsen EA, McGarry MP, Schleimer RP, Lee NA. Eosinophils in health and disease: the LIAR hypothesis. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol.* avr 2010;40(4):563-75.
4. Gotlib J. World Health Organization-defined eosinophilic disorders: 2017 update on diagnosis, risk stratification, and management. *Am J Hematol.* nov 2017;92(11):1243-59.
5. Jennette JC, Falk RJ, Bacon PA, Basu N, Cid MC, Ferrario F, et al. 2012 revised International Chapel Hill Consensus Conference Nomenclature of Vasculitides. *Arthritis Rheum.* janv 2013;65(1):1-11.
6. Churg J, Strauss L. Allergic granulomatosis, allergic angiitis, and periarteritis nodosa. *Am J Pathol.* avr 1951;27(2):277-301.
7. Chumbley LC, Harrison EG, DeRemee RA. Allergic granulomatosis and angiitis (Churg-Strauss syndrome). Report and analysis of 30 cases. *Mayo Clin Proc.* août 1977;52(8):477-84.
8. Lanham JG, Elkon KB, Pusey CD, Hughes GR. Systemic vasculitis with asthma and eosinophilia: a clinical approach to the Churg-Strauss syndrome. *Medicine (Baltimore).* mars 1984;63(2):65-81.

9. Masi AT, Hunder GG, Lie JT, Michel BA, Bloch DA, Arend WP, et al. The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of Churg-Strauss syndrome (allergic granulomatosis and angiitis). *Arthritis Rheum.* août 1990;33(8):1094-100.
10. Mahr A, Guillevin L, Poissonnet M, Aymé S. Prevalences of polyarteritis nodosa, microscopic polyangiitis, Wegener's granulomatosis, and Churg-Strauss syndrome in a French urban multiethnic population in 2000: a capture-recapture estimate. *Arthritis Rheum.* 15 févr 2004;51(1):92-9.
11. Martin RM, Wilton LV, Mann RD. Prevalence of Churg-Strauss syndrome, vasculitis, eosinophilia and associated conditions: retrospective analysis of 58 prescription-event monitoring cohort studies. *Pharmacoepidemiol Drug Saf.* mai 1999;8(3):179-89.
12. Samson M, Puéchal X, Devilliers H, Ribi C, Cohen P, Stern M, et al. Long-term outcomes of 118 patients with eosinophilic granulomatosis with polyangiitis (Churg-Strauss syndrome) enrolled in two prospective trials. *J Autoimmun.* juin 2013;43:60-9.
13. Comarmond C, Pagnoux C, Khellaf M, Cordier J-F, Hamidou M, Viallard J-F, et al. Eosinophilic granulomatosis with polyangiitis (Churg-Strauss): clinical characteristics and long-term followup of the 383 patients enrolled in the French Vasculitis Study Group cohort. *Arthritis Rheum.* janv 2013;65(1):270-81.
14. Nauseef WM. Myeloperoxidase in human neutrophil host defence. *Cell Microbiol.* août 2014;16(8):1146-55.
15. Sinico RA, Di Toma L, Maggiore U, Bottero P, Radice A, Tosoni C, et al. Prevalence and clinical significance of antineutrophil cytoplasmic antibodies in Churg-Strauss syndrome. *Arthritis Rheum.* sept 2005;52(9):2926-35.

16. Cottin V, Bel E, Bottero P, Dalhoff K, Humbert M, Lazor R, et al. Revisiting the systemic vasculitis in eosinophilic granulomatosis with polyangiitis (Churg-Strauss): A study of 157 patients by the Groupe d'Etudes et de Recherche sur les Maladies Orphelines Pulmonaires and the European Respiratory Society Taskforce on eosinophilic granulomatosis with polyangiitis (Churg-Strauss). *Autoimmun Rev.* janv 2017;16(1):1-9.
17. Chaigne B, Terrier B, Thieblemont N, Witko-Sarsat V, Mouthon L. Dividing the Janus vasculitis? Pathophysiology of eosinophilic granulomatosis with polyangiitis. *Autoimmun Rev.* févr 2016;15(2):139-45.
18. Xiao H, Heeringa P, Hu P, Liu Z, Zhao M, Aratani Y, et al. Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies specific for myeloperoxidase cause glomerulonephritis and vasculitis in mice. *J Clin Invest.* oct 2002;110(7):955-63.
19. Bansal PJ, Tobin MC. Neonatal microscopic polyangiitis secondary to transfer of maternal myeloperoxidase-antineutrophil cytoplasmic antibody resulting in neonatal pulmonary hemorrhage and renal involvement. *Ann Allergy Asthma Immunol Off Publ Am Coll Allergy Asthma Immunol.* oct 2004;93(4):398-401.
20. Cornec D, Cornec-Le Gall E, Fervenza FC, Specks U. ANCA-associated vasculitis - clinical utility of using ANCA specificity to classify patients. *Nat Rev Rheumatol.* oct 2016;12(10):570-9.
21. Healy B, Bibby S, Steele R, Weatherall M, Nelson H, Beasley R. Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies and myeloperoxidase autoantibodies in clinical expression of Churg-Strauss syndrome. *J Allergy Clin Immunol.* févr 2013;131(2):571-576.e1-6.
22. Kallenberg CGM. Churg-Strauss syndrome: just one disease entity? *Arthritis Rheum.* sept 2005;52(9):2589-93.

23. Sablé-Fourtassou R, Cohen P, Mahr A, Pagnoux C, Mouthon L, Jayne D, et al. Antineutrophil cytoplasmic antibodies and the Churg-Strauss syndrome. *Ann Intern Med.* 1 nov 2005;143(9):632-8.
24. Hardy WR, Anderson RE. The hypereosinophilic syndromes. *Ann Intern Med.* juin 1968;68(6):1220-9.
25. Chusid MJ, Dale DC, West BC, Wolff SM. The hypereosinophilic syndrome: analysis of fourteen cases with review of the literature. *Medicine (Baltimore).* janv 1975;54(1):1-27.
26. Roufousse F, Goldman M, Cogan E. Hypereosinophilic syndrome: lymphoproliferative and myeloproliferative variants. *Semin Respir Crit Care Med.* avr 2006;27(2):158-70.
27. Klion AD, Robyn J, Akin C, Noel P, Brown M, Law M, et al. Molecular remission and reversal of myelofibrosis in response to imatinib mesylate treatment in patients with the myeloproliferative variant of hypereosinophilic syndrome. *Blood.* 15 janv 2004;103(2):473-8.
28. Klion AD, Bochner BS, Gleich GJ, Nutman TB, Rothenberg ME, Simon H-U, et al. Approaches to the treatment of hypereosinophilic syndromes: a workshop summary report. *J Allergy Clin Immunol.* juin 2006;117(6):1292-302.
29. Fauci AS, Harley JB, Roberts WC, Ferrans VJ, Gralnick HR, Bjornson BH. NIH conference. The idiopathic hypereosinophilic syndrome. Clinical, pathophysiologic, and therapeutic considerations. *Ann Intern Med.* juill 1982;97(1):78-92.
30. Spry CJ, Davies J, Tai PC, Olsen EG, Oakley CM, Goodwin JF. Clinical features of fifteen patients with the hypereosinophilic syndrome. *Q J Med.* 1983;52(205):1-22.

31. Crane MM, Chang CM, Kobayashi MG, Weller PF. Incidence of myeloproliferative hypereosinophilic syndrome in the United States and an estimate of all hypereosinophilic syndrome incidence. *J Allergy Clin Immunol.* juill 2010;126(1):179-81.
32. Ogbogu PU, Bochner BS, Butterfield JH, Gleich GJ, Huss-Marp J, Kahn JE, et al. Hypereosinophilic syndrome: a multicenter, retrospective analysis of clinical characteristics and response to therapy. *J Allergy Clin Immunol.* déc 2009;124(6):1319-1325.e3.
33. Pardanani A, Brockman SR, Paternoster SF, Flynn HC, Ketterling RP, Lasho TL, et al. FIP1L1-PDGFR α fusion: prevalence and clinicopathologic correlates in 89 consecutive patients with moderate to severe eosinophilia. *Blood.* 15 nov 2004;104(10):3038-45.
34. Chen Y-YK, Khoury P, Ware JM, Holland-Thomas NC, Stoddard JL, Gurprasad S, et al. Marked and persistent eosinophilia in the absence of clinical manifestations. *J Allergy Clin Immunol.* avr 2014;133(4):1195-202.
35. Helbig G, Hus M, Francuz T, Dziaczkowska-Suszek J, Soja A, Kyrzcz-Krzemień S. Characteristics and clinical outcome of patients with hypereosinophilia of undetermined significance. *Med Oncol Northwood Lond Engl.* janv 2014;31(1):815.
36. Klion AD. How I treat hypereosinophilic syndromes. *Blood.* 27 août 2015;126(9):1069-77.
37. Guillevin L, Cohen P, Gayraud M, Lhote F, Jarrousse B, Casassus P. Churg-Strauss syndrome. Clinical study and long-term follow-up of 96 patients. *Medicine (Baltimore).* janv 1999;78(1):26-37.

38. Kim M-Y, Sohn K-H, Song W-J, Park H-W, Cho S-H, Min K-U, et al. Clinical features and prognostic factors of Churg-Strauss syndrome. *Korean J Intern Med.* janv 2014;29(1):85-95.
39. Lefèvre G, Copin M-C, Staumont-Sallé D, Avenel-Audran M, Aubert H, Taieb A, et al. The lymphoid variant of hypereosinophilic syndrome: study of 21 patients with CD3-CD4+ aberrant T-cell phenotype. *Medicine (Baltimore).* oct 2014;93(17):255-66.
40. Dulohery MM, Patel RR, Schneider F, Ryu JH. Lung involvement in hypereosinophilic syndromes. *Respir Med.* janv 2011;105(1):114-21.
41. Weller PF, Bubley GJ. The idiopathic hypereosinophilic syndrome. *Blood.* 15 mai 1994;83(10):2759-79.
42. Fox B, Seed WA. Chronic eosinophilic pneumonia. *Thorax.* août 1980;35(8):570-80.
43. Cottin V. Eosinophilic Lung Diseases. *Clin Chest Med.* 2016;37(3):535-56.
44. Vashist SK, Venkatesh AG, Marion Schneider E, Beaudoin C, Luppá PB, Luong JHT. Bioanalytical advances in assays for C-reactive protein. *Biotechnol Adv.* 1 mai 2016;34(3):272-90.
45. Gershov D, Kim S, Brot N, Elkon KB. C-Reactive protein binds to apoptotic cells, protects the cells from assembly of the terminal complement components, and sustains an antiinflammatory innate immune response: implications for systemic autoimmunity. *J Exp Med.* 6 nov 2000;192(9):1353-64.
46. Markanday A. Acute Phase Reactants in Infections: Evidence-Based Review and a Guide for Clinicians. *Open Forum Infect Dis.* sept 2015;2(3):ofv098.
47. Litao MKS, Kamat D. Erythrocyte sedimentation rate and C-reactive protein: how best to use them in clinical practice. *Pediatr Ann.* oct 2014;43(10):417-20.

48. Marnell LL, Mold C, Volzer MA, Burlingame RW, Du Clos TW. C-reactive protein binds to Fc gamma RI in transfected COS cells. *J Immunol Baltim Md* 1950. 15 août 1995;155(4):2185-93.
49. Bray C, Bell LN, Liang H, Haykal R, Kaiksow F, Mazza JJ, et al. Erythrocyte Sedimentation Rate and C-reactive Protein Measurements and Their Relevance in Clinical Medicine. *WMJ Off Publ State Med Soc Wis.* 2016;115(6):317-21.
50. Khoury P, Zagallo P, Talar-Williams C, Santos CS, Dinerman E, Holland NC, et al. Serum biomarkers are similar in Churg-Strauss syndrome and hypereosinophilic syndrome. *Allergy.* sept 2012;67(9):1149-56.
51. Eustace JA, Nadasdy T, Choi M. Disease of the month. The Churg Strauss Syndrome. *J Am Soc Nephrol JASN.* sept 1999;10(9):2048-55.
52. Solans R, Bosch JA, Pérez-Bocanegra C, Selva A, Huguet P, Alijotas J, et al. Churg-Strauss syndrome: outcome and long-term follow-up of 32 patients. *Rheumatol Oxf Engl.* juill 2001;40(7):763-71.
53. Grayson PC, Monach PA, Pagnoux C, Cuthbertson D, Carette S, Hoffman GS, et al. Value of commonly measured laboratory tests as biomarkers of disease activity and predictors of relapse in eosinophilic granulomatosis with polyangiitis. *Rheumatol Oxf Engl.* août 2015;54(8):1351-9.
54. Lefèvre G, Ackermann F, Kahn J-E. Hypereosinophilia with asthma and systemic (non-vasculitic) manifestations: Eosinophilic granulomatosis with polyangiitis or hypereosinophilic syndrome? *Autoimmun Rev.* févr 2017;16(2):208-9.
55. Kahn JE, Groh M, Lefèvre G. (A Critical Appraisal of) Classification of Hypereosinophilic Disorders. *Front Med.* 2017;4:216.
56. Roufosse F. L4. Eosinophils: how they contribute to endothelial damage and dysfunction. *Presse Medicale Paris Fr* 1983. avr 2013;42(4 Pt 2):503-7.

57. Khoury P, Grayson PC, Klion AD. Eosinophils in vasculitis: characteristics and roles in pathogenesis. *Nat Rev Rheumatol.* 2014;10(8):474-83.
58. Ishizaki J, Takemori A, Suemori K, Matsumoto T, Akita Y, Sada K-E, et al. Targeted proteomics reveals promising biomarkers of disease activity and organ involvement in antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *Arthritis Res Ther.* 29 sept 2017;19(1):218.
59. Kronbichler A, Kerschbaum J, Gründlinger G, Leierer J, Mayer G, Rudnicki M. Evaluation and validation of biomarkers in granulomatosis with polyangiitis and microscopic polyangiitis. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* 2016;31(6):930-6.
60. Weiner M, Goh SM, Mohammad AJ, Hruskova Z, Tanna A, Bruchfeld A, et al. Outcome and treatment of elderly patients with ANCA-associated vasculitis. *Clin J Am Soc Nephrol CJASN.* 7 juill 2015;10(7):1128-35.
61. Luqmani RA, Bacon PA, Moots RJ, Janssen BA, Pall A, Emery P, et al. Birmingham Vasculitis Activity Score (BVAS) in systemic necrotizing vasculitis. *QJM Mon J Assoc Physicians.* nov 1994;87(11):671-8.
62. Chaigne B, Dion J, Guillevin L, Mouthon L, Terrier B. [Pathophysiology of eosinophilic granulomatosis with polyangiitis (Churg-Strauss)]. *Rev Med Interne.* mai 2016;37(5):337-42.
63. Fujioka A, Yamamoto T, Takasu H, Kawano K, Masuzawa M, Katsuoka K, et al. The Analysis of mRNA Expression of Cytokines from Skin Lesions in Churg-Strauss Syndrome. *J Dermatol.* 1 mars 1998;25(3):171-7.
64. Saito H, Tsurikisawa N, Tsuburai T, Oshikata C, Akiyama K. Cytokine Production Profile of CD4+ T Cells from Patients with Active Churg-Strauss Syndrome Tends Toward Th17. *Int Arch Allergy Immunol.* 2009;149(Suppl. 1):61-5.

65. Groh M, Pagnoux C, Baldini C, Bel E, Bottero P, Cottin V, et al. Eosinophilic granulomatosis with polyangiitis (Churg-Strauss) (EGPA) Consensus Task Force recommendations for evaluation and management. *Eur J Intern Med.* sept 2015;26(7):545-53.
66. Gioffredi A, Maritati F, Oliva E, Buzio C. Eosinophilic granulomatosis with polyangiitis: an overview. *Front Immunol.* 2014;5:549.
67. Seccia V, Baldini C, Latorre M, Gelardi M, Dallan I, Cristofani-Mencacci L, et al. Focus on the Involvement of the Nose and Paranasal Sinuses in Eosinophilic Granulomatosis with Polyangiitis (Churg-Strauss Syndrome): Nasal Cytology Reveals Infiltration of Eosinophils as a Very Common Feature. *Int Arch Allergy Immunol.* 2018;175(1-2):61-9.
68. Fokkens WJ, Lund VJ, Mullol J, Bachert C, Alobid I, Baroody F, et al. European Position Paper on Rhinosinusitis and Nasal Polyps 2012. *Rhinol Suppl.* 2012;23:3 p preceding table of contents, 1-298.

V. Annexes

THE VALUE OF C-REACTIVE PROTEIN IN DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF HYPEREOSINOPHILIC SYNDROME AND EOSINOPHILIC GRANULOMATOSIS WITH POLYANGIITIS

Amélie Leurs, MD¹, Cécile Chenivresse, MD^{2,3,4,5,6}, Benjamin Lopez, MD^{2,7,8}, Jean-Baptiste Gibier, MD⁹, Guillaume Clément, MD¹⁰, Marie-Christine Copin, MD, PhD⁹, Delphine Staumont, MD, PhD^{2,11}, Benoit Wallaert, MD, PhD^{2,3,4,5,6}, Geoffrey Mortuaire, MD, PhD^{2,12}, Pascal De Groote, MD, PhD^{2,13}, Marie-Hélène Balquet, MD¹⁴, Frédéric Dezoteux, MD¹¹, Nathalie Bautin, MD³, Anne-Laure Buchdahl, MD¹⁵, Noémie Le Gouellec, MD¹⁶, Thomas Quemeneur, MD¹⁶, Matthieu Groh, MD, PhD^{2,17}, Sylvie Fievet^{2,7}, Nicolas Etienne, MD^{1,2}, Benjamin Pariente, MD^{2,18}, Marc Hazzan, MD, PhD¹⁹, Louis Terriou, MD^{1,2}, Sylvain Dubucquoi, MD, PhD^{7,8}, Myriam Labalette, MD, PhD^{7,8}, Sandrine Morell-Dubois, MD¹, Hélène Maillard-Lefebvre, MD¹, Vincent Sobanski, MD, PhD^{1,8}, Marc Lambert, MD, PhD^{1,8}, Eric Hachulla, MD, PhD^{1,8}, David Launay, MD, PhD^{1,8}, Jean-Emmanuel Kahn, MD, PhD^{2,8,17}, Pierre-Yves Hatron, MD, PhD¹, Guillaume Lefèvre, MD, PhD^{1,2,7,8}

1. CHU Lille, Département de Médecine Interne et Immunologie Clinique, Centre de Référence des Maladies Auto-immunes Systémiques Rares du Nord et Nord-Ouest de France (CeRAINO), F-59000 Lille, France
2. Centre de Référence National des Syndromes Hyperéosinophiliques (CEREO), France
3. CHU Lille, Département de Pneumologie et Immuno-Allergologie, Centre de compétence Maladies Pulmonaires Rares, F-59000 Lille, France

4. CHU Lille, Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale, U1019, F-59000 Lille, France
5. CHU Lille, CNRS UMR 8204, Centre for Infection and Immunity of Lille, F-59000 Lille, France;
6. Institut Pasteur de Lille, F-59019 Lille, France
7. CHU Lille, Institut d'Immunologie, F-59000 Lille, France
8. University of Lille, INSERM U995 - LIRIC - Lille Inflammation Research International Center, F-59000 Lille, France
9. CHU Lille, Département d'Anatomo-cyto-pathologie, Centre de Biologie Pathologie, F-59000 Lille, France
10. CHU Lille, Département d'Information Médicale, F-59000 Lille, France
11. CHU Lille, Département de Dermatologie, F-59000 Lille, France
12. CHU Lille, Département d'Oto-rhino-laryngologie, F-59000 Lille, France
13. CHU Lille, Département de Cardiologie Vasculaire et pulmonaire, Unité Insuffisance cardiaque et hypertension artérielle pulmonaire, F-59000 Lille, France
14. CH Lens, Département de Médecine Interne, F-62300 Lens, France
15. CH Douai, Département de Médecine Interne, F-59500 Douai, France
16. CH Valenciennes, Département de Médecine Interne et Néphrologie, F-59320 Valenciennes, France
17. CH Foch, Département de Médecine Interne, F-92151 Suresnes, France
18. CHU Lille, Département des maladies de l'appareil digestif, F-59000 Lille, France
19. CHU Lille, Département de Néphrologie, F-59000 Lille, France

ABSTRACT:

Background: The differential diagnosis of hypereosinophilic syndrome (HES) vs. eosinophilic granulomatosis with polyangiitis (EGPA) is difficult in asthma patients who test negative for myeloperoxidase-antineutrophil cytoplasmic antibodies (MPO-ANCA).

Objective: To characterize patients with hypereosinophilia and systemic manifestations according to their asthma/ANCA status and determine the diagnostic value of C-reactive protein (CRP).

Methods: In a retrospective, observational, single-center study, we examined clinical and laboratory data for patients with (i) blood eosinophilia $>1 \times 10^9/L$, and (ii) a positive ANCA assay and/or extrapulmonary manifestations related to tissue eosinophilia.

Results: One hundred and sixty-six patients were included: ANCA+ asthmatic patients (Asth+ANCA+, n=18), ANCA- asthmatic patients (Asth+ANCA-, n=65), and ANCA-asthma-free patients (Asth-ANCA-, n=83). We observed 10 cases of vasculitis manifestations among the asthma-free patients. The median [interquartile range] serum CRP levels in Asth+ANCA+, Asth+ANCA- and Asth-ANCA- patients were respectively 76.5 mg/L [23-131], 35 mg/L [8-73] and 3 mg/l [0-12]. Using the Asth+ANCA+ group as the reference set for the diagnosis of EGPA, and Asth-ANCA- group as the reference set for the diagnosis of HES, the optimal serum CRP cut-off value for HES diagnosis was found to be <36 mg/L (sensitivity: 94.8% [87.2;98.6]; specificity: 93.7% [69.8;99.8]). Asth+ANCA- patients with CRP <36 mg/l were less likely to display vasculitis manifestations than those with CRP ≥ 36 mg/l (20% vs. 62%, respectively; $p=0.0010$), including purpura (3% vs. 28%; $p=0.0122$) and mononeuritis multiplex (7% vs. 31%; $p=0.0163$).

Conclusion: In asthmatic patients with eosinophilia and systemic manifestations, a low serum CRP level might indicate the presence of HES rather than EGPA.

BACKGROUND:

Blood eosinophilia is observed in many inflammatory, allergic, infectious or neoplastic disorders. Whatever the underlying disease, the clinical manifestations and organ damage induced by tissue eosinophilia are heterogeneous and rarely specific. After having ruled out the classical conditions associated with reactive eosinophilia (i.e. parasitic or viral infections, allergic diseases, drug-induced or chemical-induced eosinophilia, hypoadrenalism, neoplasms, etc.), the differential diagnosis of two systemic diseases with a high blood eosinophil count - hypereosinophilic syndrome (HES) and eosinophil granulomatosis with polyangiitis (EGPA) - can be challenging in clinical practice.

Hypereosinophilic syndrome is defined by (i) a blood eosinophil count over $1.5 \times 10^9/L$ on two occasions at least 1 month apart, and/or (ii) evidence of prominent tissue eosinophilia associated with organ damage and/or dysfunction attributable to the eosinophils (1, 2). Cases of HES are classified as being neoplastic (clonal), reactive or idiopathic (1).

At the 2012 International Chapel Hill Consensus Conference, EGPA was defined as an eosinophil-rich, necrotizing granulomatous inflammation with necrotizing vasculitis predominantly affecting small to medium vessels (3). This condition differs from other antineutrophil cytoplasmic antibody (ANCA)-associated vasculitides by the constant presence of asthma, blood eosinophilia, and tissue eosinophilia. The only biomarker for reliably distinguishing between EGPA and other eosinophilic disorders is ANCA with myeloperoxidase (MPO) specificity. However, MPO-ANCA are present in only 30% or so of cases (4–6).

Many researchers have sought to characterize the heterogeneity of EGPA manifestations as a function of presence or absence of ANCAs (7–10). Patients with ANCAs are more likely to display purpura, alveolar hemorrhage, mononeuritis multiplex, eosinophilic tissue infiltration with a perivascular pattern, and/or rapidly progressive glomerulonephritis than patients without ANCA but are likely less to have heart and lung involvement (4, 11). For these reasons, a taskforce set up by the Groupe d'Etudes et de Recherche sur les Maladies Orphelines Pulmonaires (GERMOP) and the European Respiratory Society (ERS) developed a revised nomenclature that distinguished between EGPA (when polyangiitis and/or ANCAs were present) and a new entity (hypereosinophilic asthma with systemic (non-vasculitic) manifestations [HASM]) (6).

The clinical and biological characteristics of HES vs. EGPA have not previously described in a large group of patients. Hence, to address this question, we collected clinical and laboratory data on patients with (i) blood eosinophilia (defined as $>1.0 \times 10^9/L$ in the present study), and (ii) MPO-ANCA and/or systemic manifestations related to eosinophilic organ infiltration. We focused on MPO-ANCA-negative (ANCA) asthmatic patients with systemic manifestations and compared them with MPO-ANCA-positive (ANCA+) asthma patients and asthma-free patients with blood eosinophilia and systemic manifestations. We notably described a number of cases of eosinophilic vasculitis in patients not suffering from asthma (and thus not suffering from EGPA). We also investigated the diagnostic value of C-reactive protein (CRP) as a biomarker for differentiating between HES and EGPA.

METHODS

Population

We performed a retrospective, observational, single-center study at Lille University Hospital, which is member of the French National Reference Centre network for HES. Hospital discharge databases and laboratory databases were queried with relevant International Classification of Diseases, 10th Edition (ICD-10) codes, in order to screen all adult patients (aged 18 or over) having been diagnosed and/or treated in one of the clinical departments at Lille University Hospital between 2006 and 2016. The ICD-10 codes used were M301 (periarteritis with pulmonary involvement, for EGPA), J82 (pulmonary eosinophilia), D475 (chronic eosinophilic leukemia) and D721 (eosinophilia). The databases in the hospital's immunology and hematology laboratories were screened for requests for lymphocyte immunophenotyping (for lymphocytic variant HES) and tests for FIP1-like1 platelet-derived growth factor receptor α gene fusion. We also analyzed all patients with a positive MPO-ANCA assay (ANCA+): the latter was defined as a perinuclear pattern in an indirect immunofluorescence assay, followed by the detection of anti-MPO antibodies in a specific enzyme linked immunosorbent assay. All demographic, clinical, laboratory and histopathological data were systematically collected from medical charts using a standardized form. All doubtful cases were systematically reviewed by a practitioner with experience of eosinophilic disorders (GL) and/or an experienced respiratory physician (CC).

Patients were included if they met the following inclusion criteria: (i) blood eosinophilia greater than $1 \times 10^9/L$, and (ii) a positive MPO-ANCA assay and/or systemic manifestations related to organ damage and/or dysfunction attributable to tissue

hypereosinophilia. Patients with other known etiologies for reactive eosinophilia-like infectious, neoplastic or autoimmune diseases (except for EGPA and lymphocytic variant HES), hematological malignancies, drug hypersensitivity reactions, hypoadrenalism, and immunoglobulin G4-related diseases were excluded (see Figure 1 for further details). Patients with isolated eosinophilic asthma (i.e. with no systemic manifestations) were not included.

Study design.

Patients with blood eosinophilia and systemic manifestations were divided into three study groups for comparison of their respective clinical and biological characteristics: ANCA+ patients with persistent asthma (Asth+ANCA+ patients), ANCA- patients with persistent asthma (Asth+ANCA- patients), and ANCA- patients without asthma (Asth-ANCA- patients).

In the second part of our study, we focused on the diagnostic value of serum CRP levels in the three study groups, relative to three control groups. We compared MPO-ANCA+ patients with a diagnosis of granulomatosis polyangiitis (GPA, Wegener's granulomatosis) or microscopic polyangiitis (MPA) with Asth+ANCA- patients (considered as the reference set for EGPA diagnosis). Eosinophilic patients with isolated asthma or asymptomatic patients with eosinophilia $> 1 \times 10^9/L$ were compared with Asth-ANCA- patients (considered as the reference set for HES diagnosis). As was the case for the patients in the study groups, the control patients were only included in the CRP analysis if there were no confounding factors at diagnosis (such as another inflammatory disorder, a concomitant infectious disease or the initiation of corticosteroid treatment before the first CRP assay). Lastly, within the group of

Asth+ANCA- patients, we compared the characteristics of individuals with low vs. high serum CRP levels.

Definitions

We applied the standard diagnostic criteria for HES, the 1990 American College of Rheumatology (ACR) criteria for EGPA, and the GERMOP/ERS criteria for vasculitis in EGPA and for HASM (see Table S1 for details) (1,6,12).

Ethical statement

Patients included via routine consultations at Lille University Hospital were informed that their clinical data could be used for research purposes and were free to refuse this use. Hence, in line with the regulations set out by the French National Data Protection Commission (reference: DEC16-263), written informed consent was not requested from the study population.

Statistical analysis

Analyses were performed using SAS® software (version 9.4; SAS Institute Inc., Cary, NC). Continuous variables are quoted as the median [interquartile range (IQR)], and categorical variables are quoted as the number (percentage). For comparisons of categorical variables, we used a chi-squared test or Fisher's exact test, as appropriate. Sidak's correction for multiple comparisons was applied when necessary. For comparisons of continuous variables, we used Student's test or the Mann-Whitney test, as appropriate. For multiple comparisons, we used the Kruskal-Wallis test with Dunn's post-hoc test.

A receiver operating characteristic (ROC) curve was plotted for serum CRP levels, and the area under the curve (AUC) was calculated in order to discriminate between ANCA+ asthmatic patients (used as the reference set for EGPA diagnosis) and

asthma-free patients (used as the reference set for HES diagnosis). The best cut-off value was chosen according to the Youden index calculation, which defines the maximum potential effectiveness of a biomarker when equal weight is given to sensitivity (Se) and specificity (Sp)). The positive predictive value (PPV) and the negative predictive value were calculated on the basis of the target condition's prevalence in the included population.

All tests were two-tailed. The threshold for statistical significance was set to $p < 0.05$.

RESULTS

General characteristics of the study population

Of the 545 patients screened, 166 met the inclusion criteria (blood eosinophilia $> 1 \times 10^9/L$ and systemic manifestations) and were classified into the three study groups: 18 Asth+ANCA+ patients, 65 Asth+ANCA- patients and 83 Asth-ANCA- patients (Figure 1). The patients' main demographic, clinical and biological characteristics at diagnosis are summarized in Table 1.

In the Asth+ANCA+ group, 100%, 83% and 100% of the patients met the criteria for HES, the ACR criteria for EGPA and GERMOP/ERS criteria for EGPA, respectively. In the Asth+ANCA- group, these proportions were respectively in 97%, 58% and 34%. Asth-ANCA- patients met the criteria for HES, the ACR criteria for EGPA and the GERMOP/ERS criteria for EGPA (apart from the presence of asthma) in 99%, 1% and 7% of cases, respectively. Lastly, 51% of the Asth+ANCA- patients and 6% of the Asth+ANCA+ patients ($p=0.0011$ for the intergroup difference) met the criteria for HASM.

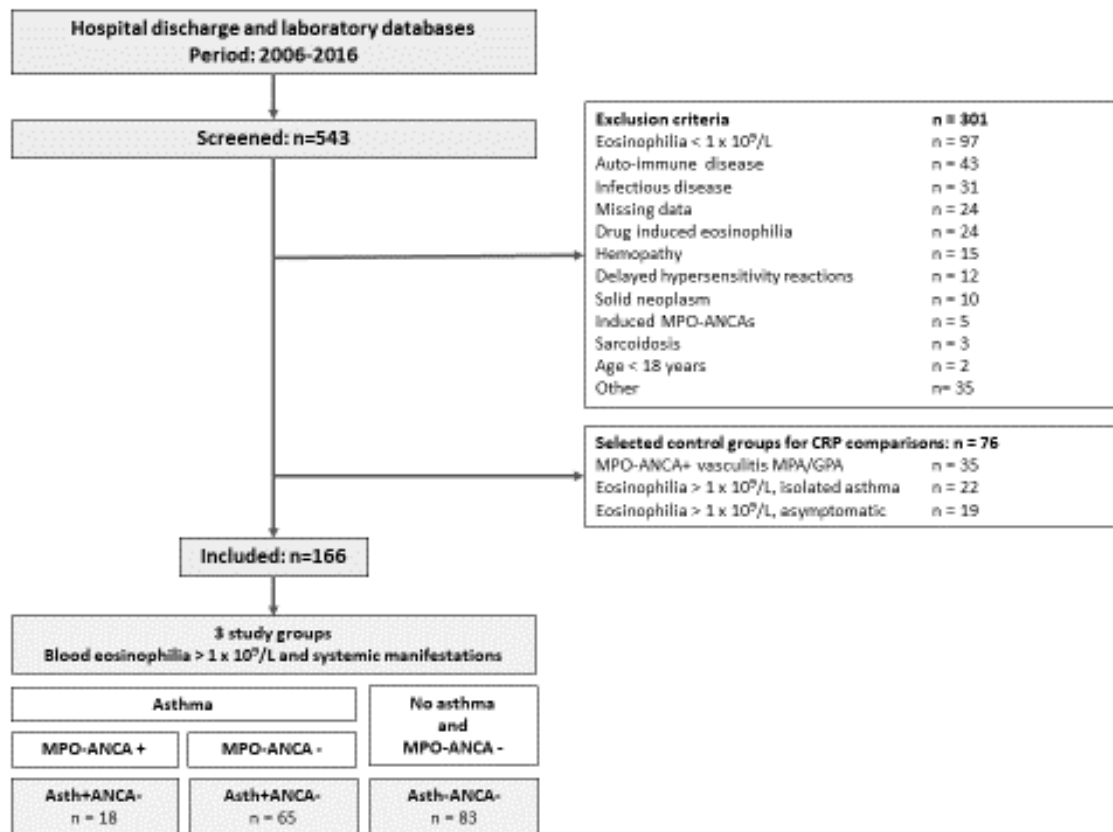


FIG 1. Study flow chart.

Asth+ANCA+: patients with persistent asthma and positive MPO-ANCA assays;
 Asth+ANCA-: patients with persistent asthma and negative MPO-ANCA assays;
 Asth-ANCA-: asthma-free patients with negative MPO-ANCA assays;
 ANCA: antineutrophil cytoplasmic antibodies; MPO: myeloperoxidase; GPA: granulomatosis with polyangiitis; MPA: microscopic polyangiitis

TABLE 1. General characteristics of patients with blood eosinophilia >1 G/L and systemic manifestations

	Asth+ANCA+ (n=18)	<i>p</i>	Asth+ANCA- (n=65)	<i>p</i>	Asth-ANCA- (n=83)
Sex, male/female	11/7	<i>ns</i>	24/41	0.025	49/34
Age (years)	59 [49;63]	<i>ns</i>	48 [42.5;57.5]	0.002	60 [39;72]
CRITERIA FOR HES					
HES criteria	18 (100%)	<i>ns</i>	63 (97%)	<i>ns</i>	82 (99%)
Blood eosinophilia ≥ 1.5 G/L at ≥ 2 examinations	18 (100%)	<i>ns</i>	63 (97%)	<i>ns</i>	80 (96%)
Tissue eosinophilia	5 (28%)	0.0026	47 (72%)	<i>ns</i>	63 (76%)
Clonal eosinophilia and/or myeloproliferative disorder	0	<i>ns</i>	1 (2%)	<i>ns</i>	9 (11%)
Abnormal circulating T-cells (lymphocytic variant HES)	0	<i>ns</i>	2 (3%)	<i>ns</i>	7 (8%)
CRITERIA FOR EGPA					
≥ 4 of the 6 1990 ACR criteria	15 (83%)	<i>ns</i>	38 (58%)	<0.0001	1 (1%)
GERMOP/ERS revised nomenclature					
EGPA criteria (polyangiitis)	18 (100%)	<0.0001	22 (34%)	<0.0001	6 (7%) (1)
Definite vasculitis	10 (56%)	0.06	16 (25%)	0.0002	2 (2%)
Strong surrogate of vasculitis	0	<i>ns</i>	0	<i>ns</i>	0
Mononeuritis multiplex	11 (61%)	0.0014	11 (17%)	0.075	4 (5%)
MPO-ANCA	18 (100%)		0		0
Hypereosinophilic asthma with systemic (non-vascularitic) manifestations	1 (6)	0.0011	33 (51%)	<i>na</i>	<i>na</i>
GENERAL MANIFESTATIONS					
Fever $>38^{\circ}\text{C}$	7 (39%)	<i>ns</i>	20 (31%)	<0.0001	2 (2%)
Asthenia	14 (78%)	<i>ns</i>	42 (65%)	0.0026	30 (36%)
Myalgia	6 (33%)	<i>ns</i>	11 (17%)	<i>ns</i>	7 (8%)
Arthralgia	7 (39%)	<i>ns</i>	18 (28%)	<i>ns</i>	14 (17%)
LUNG MANIFESTATIONS					
History of asthma	<i>na</i>		<i>na</i>		9 (11%)
Persistent asthma at diagnosis	18 (100%)	<i>ns</i>	65 (100%)	<i>na</i>	<i>na</i>
Duration of asthma at diagnosis (years)	4.5 [1.25;9.75]	<i>ns</i>	4 [1.5;19.5]	<i>na</i>	<i>na</i>
Allergic asthma	4 (22%)	<i>ns</i>	24 (37%)	<i>na</i>	<i>na</i>
Lung infiltrates	9 (50%)	<i>ns</i>	34 (52%)	<0.0001	11 (13%)
Pleural effusion	2 (11%)	<i>ns</i>	13 (20%)	<i>ns</i>	11 (13%)

<i>Alveolar hemorrhage</i>	4 (22%)	<i>0.054</i>	2 (3%)	<i>ns</i>	0
<i>Eosinophilic count ≥25% in bronchoalveolar lavage</i>	3 (17%)	<i>ns</i>	10 (15%)	<i>ns</i>	7 (8%)
ENT MANIFESTATIONS					
<i>Chronic rhinosinusitis</i>	15 (83%)	<i>ns</i>	51 (78%)	<0.0001	19 (23%)
<i>Nasal polyposis</i>	9 (50%)	<i>ns</i>	35 (54%)	<0.0001	7 (8%)
CARDIAC MANIFESTATIONS					
<i>Myocarditis</i>	0	<i>ns</i>	9 (14%)	0.015	1 (1%)
<i>Myocardial infarction due to coronary arteritis</i>	0	<i>ns</i>	1 (2%)	<i>ns</i>	0
<i>Pericarditis</i>	2 (11%)	<i>ns</i>	16 (25%)	0.0052	5 (6%)
<i>Endomyocardial fibrosis</i>	0	<i>ns</i>	2 (3%)	<i>ns</i>	2 (2%)
<i>Deep venous thrombosis/pulmonary embolism</i>	0	<i>ns</i>	3/1 (5%/2%)	<i>ns</i>	6/1 (7%/1%)
RENAL MANIFESTATIONS					
<i>Hematuria + proteinuria > 0.2 g/day</i>	4 (22%)	0.021	1 (2%)	<i>ns</i>	1 (1%)
<i>Biopsy-proven necrotizing or crescentic glomerulonephritis</i>	2 (11%)	<i>ns</i>	1 (2%)	<i>ns</i>	0
<i>Creatinine > 150 μmol/L</i>	1 (6%)	<i>ns</i>	1 (2%)	<i>ns</i>	1 (1%)
GASTROINTESTINAL MANIFESTATIONS					
<i>Abdominal pain</i>	4 (22%)	<i>ns</i>	18 (28%)	<i>ns</i>	22 (27%)
<i>Diarrhoea</i>	1 (6%)	<i>ns</i>	14 (22%)	<i>ns</i>	19 (23%)
<i>Pancreatitis</i>	0	<i>ns</i>	2 (3%)	<i>ns</i>	4 (5%)
<i>Eosinophilic gastroenteritis (biopsy-proven)</i>	0	<i>ns</i>	7 (11%)	<i>ns</i>	13 (16%)
<i>Ischemic colitis</i>	0	<i>ns</i>	0	<i>ns</i>	2 (2%)
<i>Ascites</i>	0	<i>ns</i>	3 (5%)	<i>ns</i>	4 (5%)
NEUROLOGIC MANIFESTATIONS					
<i>Mononeuritis multiplex</i>	11 (61%)	0.0014	11 (17%)	<i>0.075</i>	4 (5%)
<i>Distal polyneuropathy</i>	1 (6%)	<i>ns</i>	11 (17%)	<i>ns</i>	5 (6%)
<i>Inflammatory lesions of cerebral white matter</i>	0	<i>ns</i>	0	<i>ns</i>	3 (4%)
<i>Cerebral vasculitis</i>	1 (6%)	<i>ns</i>	3 (5%)	<i>ns</i>	1 (1%)
<i>Ischaemic stroke (without vasculitis)</i>	1 (6%)	<i>ns</i>	5 (8%)	<i>ns</i>	5 (6%)
CUTANEOUS MANIFESTATIONS					
<i>Palpable purpura</i>	5 (28%)	<i>ns</i>	10 (15%)	0.0005	0
<i>Digital necrosis</i>	0	<i>ns</i>	0	<i>ns</i>	1 (1%)
<i>Splinter hemorrhage</i>	0	<i>ns</i>	1 (2%)	<i>ns</i>	1 (1%)
<i>Livedo racemosa</i>	1 (6%)	<i>ns</i>	0	<i>ns</i>	1 (1%)
<i>Erythematous papules, plaques, and/or nodules</i>	0	<i>ns</i>	14 (22%)	0.0053	39 (47%)
<i>Urticaria</i>	0	<i>ns</i>	9 (14%)	<i>ns</i>	15 (18%)

<i>Angioedema</i>	1 (6%)	<i>ns</i>	8 (12%)	<i>ns</i>	8 (10%)
BIOLOGICAL CHARACTERISTICS					
Absolute eosinophil count (X10 ⁹ /L)	6 [4.2-11.3]	<i>ns</i>	4.2 [2.4-10.6]	<i>0.07</i>	2.7 [2-6.2]
Eosinophils > 10% of leukocytes	17 (94%)	<i>ns</i>	61 (94%)	<i>ns</i>	82 (99%)
Elevated serum tryptase (2)	0	<i>ns</i>	4 (12%)	<i>ns</i>	10 (15%)
Elevated serum IgE (2)	6 (75%)	<i>ns</i>	42 (74%)	<i>ns</i>	34 (61%)
Elevated serum vitamin B12 (2)	0	<i>ns</i>	1 (2%)	<i>ns</i>	6 (11%)
Serum CRP (mg/L) (3)	76.5 [23-131]	0.028	35 [8-73]	<0.0001	3 [0-12]

ACR, American College of Rheumatology; ANCA, antineutrophil cytoplasmic antibodies; Asth+ANCA+, patients with persistent asthma and positive MPO-ANCA tests; Asth+ANCA-, patients with persistent asthma and negative MPO-ANCA tests; Asth-ANCA-, asthma-free patients with negative MPO-ANCA tests; EGPA, eosinophil granulomatosis with polyangiitis; ENT, ear nose and throat; ERS, European Respiratory Society; GERMOP, Groupe d'Etudes et de Recherche sur les Maladies Orphelines Pulmonaires; HES, hypereosinophilic syndrome; IgE, immunoglobulin E; MPO, myeloperoxidase; na, not applicable; ns, non-significant

(1) The criteria EGPA (polyangiitis) are given here for guidance, despite the absence of asthma.

(2) The serum tryptase level was available for n=3/34/66 patients in Asth+ANCA+, Asth+ANCA-, Asth-ANCA- patients respectively, with data on IgE in n=8/57/56 and data on vitamin B12 in 8/42/55.

(3) The serum CRP level was available for n=16/59/77 patients in Asth+ANCA+, Asth+ANCA-, Asth-ANCA- patients respectively. The mean CRP level was 92.6±49.6 mg/L in Asth+ANCA+ and 53.2±54.2 mg/L in Asth+ANCA-.

Compared with Asth+ANCA+ patients, Asth+ANCA- patients were significantly more likely to present with tissue eosinophilia (28% vs. 72%, respectively; $p=0.0026$) and HASM (0% vs. 52%; $p=0.0011$) and significantly less likely to present with hematuria + proteinuria > 0.2 g/day (22% vs. 2%, $p=0.0213$) and mononeuritis multiplex (61% vs. 17%, $p=0.0014$). The Asth+ANCA- patients also showed a non-significant trend towards a lower frequency of vasculitis (25%, vs. 56% in Asth+ANCA+; $p=0.06$) and alveolar hemorrhage (3%, vs. 22% in Asth+ANCA+; $p=0.054$). The proportion of female patients was higher in Asth+ANCA- (63%) than in Asth-ANCA- patients (41%; $p=0.025$).

Compared with Asth-ANCA-patients, Asth+ANCA- patients were significantly more likely to present with vasculitis (2.4% vs. 25%, respectively; $p=0.0002$), fever (2% vs. 31%; $p<0.0001$), asthenia (36% vs. 65%; $p=0.0026$), lung infiltrates (13% vs. 52%; $p<0.0001$), chronic rhinosinusitis (19% vs. 78%; $p<0.0001$) and nasal polyposis (8% vs. 54%; $p<0.0001$), myocarditis (1% vs. 14%; $p=0.0154$), and pericarditis (6% vs. 25%; $p=0.0052$), and significantly less likely to present with erythematous papules, plaques and/or nodules (47% vs. 22%; $p=0.0053$).

Vasculitis can be observed in hypereosinophilic patients in the absence of asthma

Ten of the Asth-ANCA- patients presented clinical manifestations of vasculitis and/or biopsy-proven vasculitis (Table 2). Eight of these patients developed symptoms consistent with vasculitis: mononeuritis multiplex ($n=4$), ischemic colitis, cerebral vasculitis, livedo racemosa, and digital necrosis (all $n=1$). Interestingly, some histopathological features of vasculitis were also present, with the observation of

eosinophilic infiltration in a surgical biopsy of chronic eosinophilic pneumoniae (n=1), chronic prurigo lesions (n=1), and eczematous lesions (n=1). In 4 cases, eosinophilic vasculitis was diagnosed on the basis of several observations: slight to massive infiltration of eosinophils (n=4), the presence of eosinophils in the vessel wall (n=4), arteriolar thrombosis (n=2), and/or fibrinoid necrosis (n=1) (Figure 2).

Serum CRP levels could not be reliably interpreted in a patient who developed necrosis of the colon (i.e. a possible nonspecific increase) and a patient who was already being treated with corticosteroids (i.e. possible underestimation). Interestingly, 7 of the 8 remaining patients had normal to slightly elevated serum CRP levels (≤ 15 mg/L) (Table 2). Considering the difference in CRP levels between the 3 study groups and the low levels in Asth-ANCA- patients (even in patients with vasculitis), we then focused on the value of this easy-to-assay biomarker in our patients.

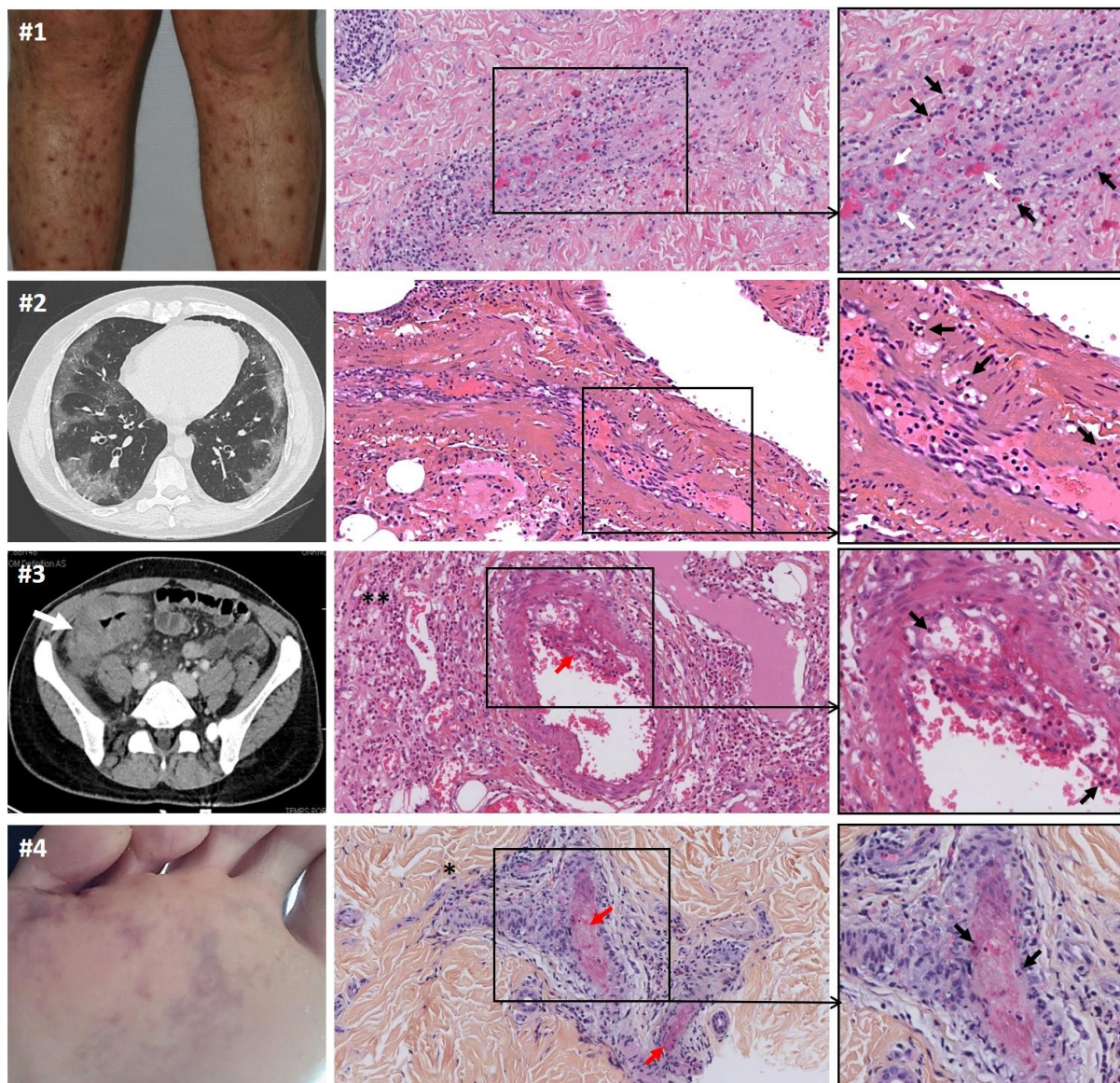


FIG 2. Representative histopathological features of vasculitis in (asthma-free) hypereosinophilic patients. Left panel: patients #1 to 4 developed a prurigo (and digital necrosis, not shown), chronic eosinophilic pneumonia, ischemic colitis (arrow) and livedo racemosa, respectively. Middle/right panels: hematoxylin-eosin staining revealed mild (#4) to massive (#1,2,3) infiltration of eosinophils, eosinophils in arterial wall (black arrows), arteriolar thrombosis (red arrows) and fibrinoid necrosis with red cells extravasation (white arrows, patient #1) (See Table 3 for details)

TABLE 2. Clinical and histopathological characteristics of vasculitis in Asth-ANCA- patients

Patients	Age/Sex	Symptoms of vasculitis	Other clinical manifestations related to HE	Main histopathological findings	Eosinophil count at diagnosis (G/L)	Serum CRP level at diagnosis (mg/L)
#1	27/M	Digital necrosis	Prurigo	Skin (prurigo): massive infiltration of eosinophils, eosinophils in vessel wall, fibrinoid necrosis.	2	3
#2	51/M		Chronic eosinophilic pneumonia	Lung: massive infiltration of eosinophils, eosinophils in vessel wall, arteriolar thrombosis	1.3	0
#3	46/F	Ischemic colitis		Colon (resected necrotic segment): massive infiltration of eosinophils, eosinophils in the vessel wall, multiple arteriolar thromboses	10.7	45 (1)
#4	45/M	Livedo racemosa		Skin: massive infiltration of eosinophils, eosinophils in vessel wall, arteriolar thrombosis	14.6	3
#5	43/F	Mononeuritis multiplex	Acute myocarditis and pericarditis, inflammatory cerebral white matter lesions	na	12.4	15
#6	67/M	Cerebral vasculitis	Distal polyneuropathy	na	11.7	0 (2)
#7	72/F	Mononeuritis multiplex	Myositis, meningoencephalitis	Muscle: non-eosinophilic vasculitis. Cerebrospinal fluid: hypercellularity, 25% eosinophils	12.4	60
#8	56/M	Mononeuritis multiplex	Erythematous papules, eosinophilic gastroenteritis	Skin: infiltration of eosinophils. Digestive tract: infiltration of eosinophils	5.1	15
#9	72/M	Mononeuritis multiplex	Erythematous papules	Skin: flame figures, dermal edema and dermal infiltration by eosinophils (Well's syndrome)	5.6	0
#10	43/F		Erythematous papules, recurrent urticaria, arthralgia	Skin (papules): leukocytoclastic vasculitis and infiltration of eosinophils	2.3	4

Age, age at diagnosis; F, female; M, male; HE, hypereosinophilia; na, not available: CRP, C-reactive protein

(1) the CRP assay was performed when colon necrosis was diagnosed; (2) the CRP assay was performed after the initiation of corticosteroid treatment.

Serum CRP levels differed in the three study groups, and were consistent with levels in control groups

The median [IQR] serum CRP level was highest in Asth+ANCA+ patients (76.5 mg/L [23-131]) and lowest in Asth-ANCA- (3.0 mg/L [0-12]). Both of these values differed significantly from that of Asth+ANCA- (35.0 mg/L [8-73]; $p < 0.0001$ in a Kruskal-Wallis test) (Table 1, Figure 3A).

In order to test the potential diagnostic value of high vs. low serum CRP levels, these serum CRP levels were compared to selected control patients. In Asth+ANCA+ patients, the median [IQR] serum CRP level was similar to that measured in MPO/ANCA+ GPA/MPA patients (85 [54-130], $p = 0.78$) (Figure 3B).

In Asth-ANCA- patients, the median [IQR] serum CRP level was similar to those recorded in isolated eosinophilic asthma (0 [0-5.2]; $p = 0.11$) and patients with asymptomatic blood eosinophilia ($>1 \times 10^9/L$) (0 [0-3]; $p = 0.84$) (Figure 3C).

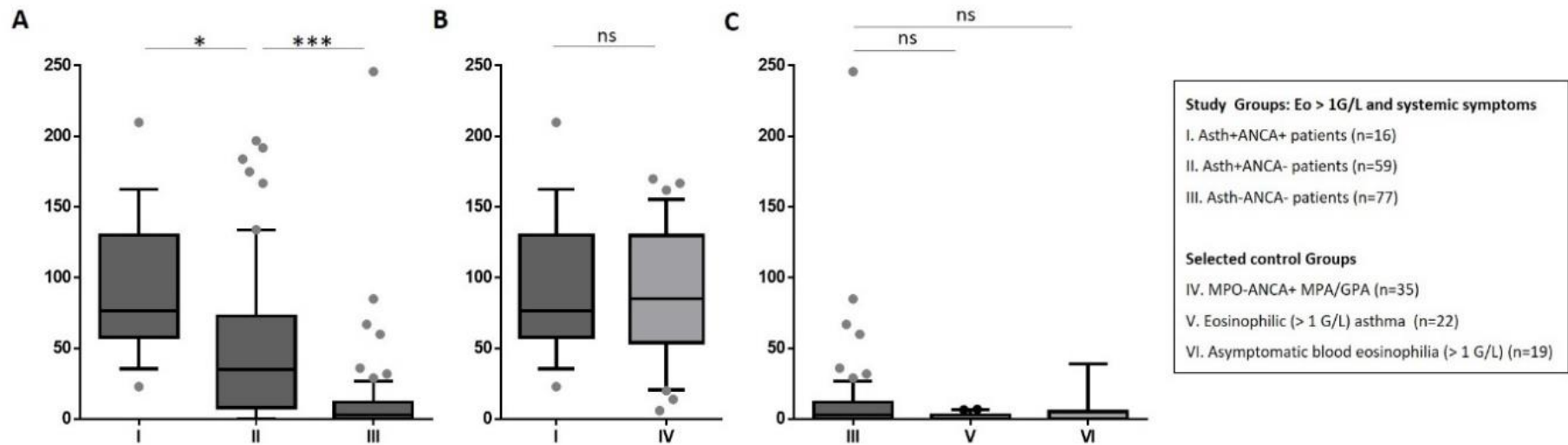


FIG 3. CRP levels in the study groups (A) and control groups (B-C). Asth+ANCA+: patients with persistent asthma and positive MPO-ANCA assays; Asth+ANCA-: patients with persistent asthma and negative MPO-ANCA assays; Asth-ANCA-: asthma-free patients with negative MPO-ANCA assays; ANCA: antineutrophil cytoplasmic antibodies; CRP: C-reactive protein; EGPA: eosinophilic granulomatosis with polyangiitis; Eo: blood eosinophilia; MPO: myeloperoxidase. Boxes: median [interquartile range]; error bars: 10th-90th percentiles. * p=0.028 *** p < 0.0001

Assessment of the characteristics ANCA- patients with asthma, as a function of serum CRP levels

We next decided to evaluate the diagnostic value of the serum CRP level in patients in Asth+ANCA- (for which the median level was situated between the values for Asth+ANCA+ and Asth-ANCA- groups). We considered Asth+ANCA+ group as the reference set for EGPA and Asth-ANCA- group as the reference set for HES. On the ROC curve, the AUC [95%CI] for serum CRP was 0.966 [0.907–0.993]. According to the Youden index, the best cut-off value was 36 mg/L; this yielded a Se of 94.8% [87.2; 98.6], an Sp of 93.7% [69.8; 99.8], and a PPV of 98.6% [91.6; 99.8] for the diagnosis of HES (Figure 4).

We then compared the characteristics of Asth+ANCA- patients with serum CRP levels above vs. below this CRP cut-off of 36 mg/L (Table 3). Relative to patients with a serum CRP value below 36 mg, patients with a serum CRP value above 36 mg/L were more likely to meet the ACR criteria (37% vs. 83%, respectively; $p=0.0003$) and to present with vasculitis (13% vs. 55%, respectively; $p=0.0007$), purpura (3% vs. 28%; $p=0.0122$) and mononeuritis multiplex (7% vs. 31%; $p=0.0163$).

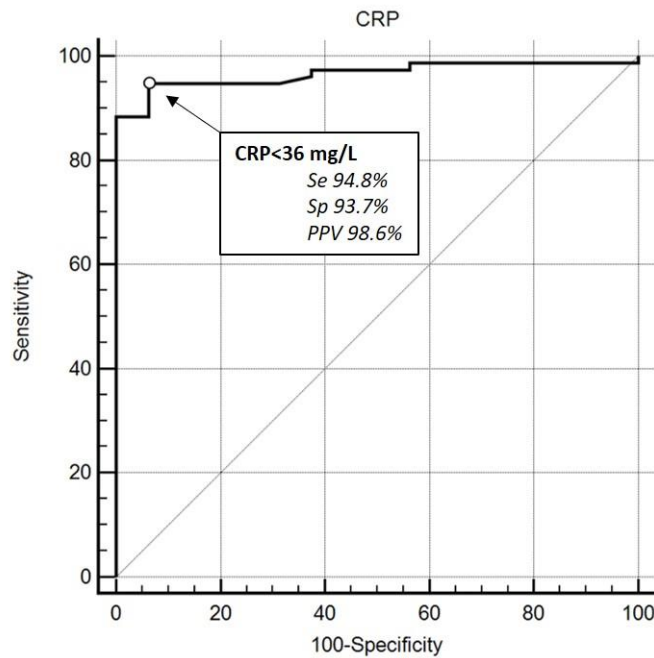


FIG 4. ROC curve for serum CRP in Asth+ANCA+ patients (the reference group for EGPA diagnosis) and Asth-ANCA- patients (the reference group for HES diagnosis). The performance level of the cut-off CRP<36 mg/L is given for the diagnosis of HES. ANCA: antineutrophil cytoplasmic antibodies; CRP: C-reactive protein; EGPA: eosinophilic granulomatosis with polyangiitis; HES: hypereosinophilic syndrome; MPO: myeloperoxidase; Se: sensitivity; Sp: specificity; PPV: positive predictive value.

TABLE 3. Characteristics of Asth+ANCA- patients, as a function of the serum CRP level

Characteristics	CRP < 36 mg/L (n=30)	CRP > 36 mg/L (n=29)	<i>p</i>
Hypereosinophilic asthma with systemic (non-vasculitic) manifestations (1) (%)	20 (67%)	10 (34%)	0.013
≥4 of the 6 1990 ACR criteria (%)	11 (37%)	24 (83%)	0.0003
EGPA criteria (polyangiitis) (1) (%)	4 (13%)	16 (55%)	0.0007
Definite vasculitis (1) (%)	3 (10%)	11 (38%)	0,012
Palpable purpura (%)	1 (3%)	8 (28%)	0.012
Mononeuritis multiplex (%)	2 (7%)	9 (31%)	0.016
Distal polyneuropathy (%)	3 (10%)	8 (28%)	0.083
Myocarditis (%)	2 (7%)	7 (24%)	0.06
Alveolar hemorrhage (%)	1 (3%)	0	<i>ns</i>
Biopsy-proven necrotizing or crescentic glomerulonephritis (%)	0	1 (3%)	<i>ns</i>
Cerebral vasculitis (%)	1 (3%)	1 (3%)	<i>ns</i>
Myocardial infarction due to coronary arteritis (%)	0	1 (3%)	<i>ns</i>

ACR, American College of Rheumatology; ANCA, antineutrophil cytoplasmic antibodies; Asth+ANCA-, patients with persistent asthma and negative MPO-ANCA tests; CRP, C-reactive protein; MPO, myeloperoxidase.

(1) According to GERMOP/ERS revised nomenclature

DISCUSSION

The differential diagnosis of ANCA- EGPA and HES is a challenge in routine clinical practice (13, 14). The primary objective of the present study was to assess the characteristics of patients with blood eosinophilia as a function of ANCA status and the presence/absence of asthma, rather than the conventional classification criteria of EGPA and HES - given the overlaps in the clinical and laboratory data. We observed biopsy-proven vasculitis and/or clinical manifestations of vasculitis in asthma-free patients with HES. One can therefore question the relevance of classifying asthmatic patients according to the sole presence or absence of vasculitis. In a second step, we evaluated the diagnostic value of the serum CRP level in patients with EGPA (ANCA+ patients with asthma) or HES (ANCA- patients without asthma). In ANCA- patients with asthma, a serum CRP level below 36 mg/l was suggestive of HES, and clinical manifestations of vasculitis were more frequent (but not always present) in patients with a serum CRP level above 36 mg/l.

Our results highlight the overlap between the manifestations of EGPA and HES and the conventional classification criteria. Indeed, 97% of the Asth+ANCA- patients (in which differential diagnosis is the most difficult) met the criteria for HES, with respectively 58%, 34% and 51% meeting the ACR criteria, the GERMOP/ERS criteria for polyangiitis, and the criteria for HASM criteria.

Our results also confirm the presence of major clinical differences between ANCA- and ANCA+ patients with EGPA. The latter were more likely to present with manifestations of vasculitis (5,7–10) such as mononeuritis multiplex, renal involvement (both $p < 0.05$), alveolar hemorrhage and purpura ($p > 0.05$; the lack of statistical significance was probably due to the small sample size). In our study, 52% of ANCA- patients with

asthma did not have any manifestations of vasculitis. This is in line with the recent report on the GERMOP/ERS cohort, in which 59% of ANCA- patients with asthma met the new criteria for HASM (6). Indeed, this revised nomenclature suggests distinguishing between EGPA (with true polyangiitis) and HASM (as a non-vasculitic disease). This revision is an important step in the division of the various phenotypes encountered in eosinophilic asthmatic patients with systemic manifestations; indeed, our results argue in favor of making this distinction for the various phenotypes in ANCA- patients with asthma. Although specialist treatment of asthma may well be necessary, the need to distinguish between HASM and HES is, however, questionable (13). In fact, asthma is not considered to be an exclusion criterion for the diagnosis of HES; the proportion of patients with HES and asthma ranges from 11% in a large international cohort to 27% in a recent study of lung involvement (15, 16). In the latter study, 13 of the 49 patients (27%) had persistent asthma (including 6 in whom the condition was diagnosed at the same time as HES) and 7 patients (14%) had a history of asthma (16). In the present study, 99% of the Asth-ANCA- patients met the criteria for HES. This group's clinical profile was similar to that of the international cohort of 188 HES patients, 64%, 54% and 37% of whom developed dermatologic, pulmonary and gastrointestinal manifestations, respectively (vs. 69%, 44% and 38% in our study) (15). This is why we considered this group to be our reference set for HES diagnosis.

Ear, nose and throat symptoms and asthma are usually considered as a signs of a prodromal phase in the natural history of EGPA (17–19). However, factors predictive of a progression towards EGPA have not yet been identified. Even though asthma was a mandatory criterion in Lanham's diagnostic criteria (17), it became optional in the 1990 ACR criteria (12); this is the reason why up to 10% of patients have been included in various case series despite the absence of asthma, and would have been diagnosed

with HES in other studies (4, 5, 20, 21). Indeed, eosinophilia and current or past asthma are now required for a diagnosis of EGPA (3, 6) and inclusion in clinical trials (22). In the present study, we chose to classify patients according to the presence or absence of persistent asthma.

Furthermore, we observed 10 cases of manifestations of vasculitis in asthma-free patients, including 4 cases of biopsy-proven eosinophilic vasculitis. Mononeuritis multiplex is a classical manifestation of vasculitis (6). Four of these asthma-free patients variously presented mononeuritis multiplex, peripheral blood hypereosinophilia (n=4; 5.1 to 12.4 X10⁹/L), various other systemic manifestations consistent with eosinophil involvement (n=4) and eosinophilic infiltrates in other organs (n=3 of the 3 biopsied patients). Mononeuritis multiplex and asymmetrical polyneuropathy have been reported in HES patients but the few biopsied cases did not show any evidence of vasculitis and eosinophilic infiltration (23, 24). Oka et al. hypothesized that two pathogenic mechanisms are responsible for neuropathy in EGPA: vascular fibrinoid necrosis (predominantly in ANCA+ patients) and/or a toxic eosinophilic effect on nerve fibers (in ANCA+ patients) (25). Given that a nerve biopsy was not performed in the asthma-free patients having developed mononeuritis multiplex (n=4) or distal polyneuropathy (n=5), we cannot draw conclusions as to the mechanism(s) involved. However, we suggest that neuropathy (including mononeuritis multiplex) should not be systematically considered as a manifestation of vasculitis or (by extension) EGPA (25).

In contrast, we observed undisputable manifestations of vasculitis in asthma-free patients: ischemic colitis, livedo racemosa (both biopsy-proven cases of vasculitis), digital necrosis, and cerebral vasculitis. Two patients presented with non-vasculitic

manifestations (chronic eosinophilic pneumoniae in one case and prurigo in the other). Unexpected histopathological features of vasculitis (including fibrinoid necrosis) were observed in the patient with prurigo. Mild to massive eosinophilic infiltration was observed in all our biopsy-proven cases of vasculitis, as described in EGPA (Table 2, Figure 2). Interestingly, biopsy-proven and sometimes necrotizing eosinophilic vasculitis has frequently been described in asthma-free patients: recurrent cutaneous eosinophilic vasculitis, drug-induced vasculitis with predominant eosinophilic vasculitis, digital necrosis and/or arterial thrombosis related to eosinophilic vasculitis, eosinophilic myositis, and idiopathic chronic eosinophilic pneumonia. The serum CRP level was reported in only 7 cases, and was normal to slightly elevated (<15 mg/l) in 6 of these – as in the present study (see Supplemental Table S2 for a summary of these cases). Since activated eosinophils can be toxic for endothelial cells (56) and can infiltrate the vessel wall in damaged organs (27), we hypothesize that eosinophil-induced vasculitis and eosinophil tissue infiltration may be associated in various eosinophilic disorders (including EGPA and other conditions).

Considering that (i) the serum CRP levels differed in our three study groups, and (ii) some asthma-free patients with vasculitis had low CRP levels, we then focused on this simple biomarker in the study groups and the corresponding control groups. Serum CRP levels were higher in Asth+ANCA+ patients than in Asth+ANCA- patients. The same observation was made in the French Vasculitis Study Group Cohort, with mean \pm standard deviation serum CRP levels of 78.7 ± 62.4 and 58.5 ± 60.1 mg/L in ANCA+ and ANCA- patients, respectively ($p=0.04$) (5). In the present study, the values in these groups of patients were respectively 92.6 ± 49.6 and 53.2 ± 54.2 mg/L.

In our study, serum CRP levels in Asth+ANCA+ patients were similar to other ANCA+ patients with vasculitis (MPA and GPA). This finding suggests that a high CRP level is consistent with ANCA+ systemic vasculitis (Figure 3B), and agrees with other reports in which CRP was considered to be a biomarker of ANCA-associated vasculitis disease activity (28-31). Conversely, serum CRP levels in Asth-ANCA-patients were similar to those in patients with eosinophilic asthma and patients with peripheral blood hypereosinophilia, which suggests that a normal or slightly elevated CRP level is expected in a high proportion of cases in which a diagnosis of EGPA can be easily ruled out (i.e. no asthma and/or no systemic manifestations).

Lastly, to better evaluate the diagnostic value of the serum CRP level, we compared the clinical characteristics of Asth+ANCA- patients with low vs. high serum CRP levels. To obtain an objective cut-off, we used Asth+ANCA+ patients and Asth-ANCA-patients as reference groups for the diagnoses of EGPA and HES, respectively. The ROC curve and the Youden index yielded an optimal cut-off of 36 mg/L - close to the median serum CRP level of 35 mg/L in Asth+ANCA- patients. A serum CRP level below 36 mg/L was predictive of a diagnosis of HES (Se: 94.8 [87.2; 98.6]; Sp: 93.7 [69.8;99.8]; PPV: 98.6 [91.6;99.8]). We observed that manifestations of vasculitis were more frequent in patients with a serum CRP level above 36 mg/L (Table 3). We also noted that 4 (13%) Asth+ANCA- patients with low serum CRP levels presented some manifestations of vasculitis according to the GERMOP/ERS revised nomenclature, and 11 (37%) fulfilled the 1990 ACR criteria for EGPA: considering that vasculitis can be observed in HES patients and that serum CRP levels are low in these patients, we suggest that Asth+ANCA- patients with vasculitis and low serum CRP levels should be diagnosed with HES and not EGPA.

A recent study unsuccessfully tried to differentiate between EGPA and HES by considering levels of CRP and many other biomarkers; this failure was probably due to the small number of patients and the fact that 60% of patients were taking corticosteroids at the time of evaluation (an exclusion criterion in the present study) (32). Furthermore, CRP was considered to be a poor longitudinal biomarker of disease activity and a poor predictor of flares in EGPA (20). The disparity between the literature data and our present results might be due to the heterogeneity of eosinophilic disorders encompassed by a diagnosis of “EGPA”. This heterogeneity is also suggested by the results of clinical trials in EGPA. For example, the results of a negative trial of azathioprine vs. placebo in low-risk EGPA and the results of the recent MIRRA study (demonstrating the benefit of mepolizumab in only half of EGPA patients with relapsing or treatment-refractory disease) confirm that some EGPA patients have an “eosinophilic phenotype” rather than a “vasculitis phenotype” (22, 33).

Other biomarkers may be of value for the differential diagnosis of (active) EGPA vs. HES. Levels of interleukin-25 and chemokine (C-C motif) ligand 26-eotaxin 3 (CCL26) are elevated in EGPA (34-36) but not in HES. However, CRP may be highly more suitable for use in routine practice. Moreover, serum levels of IL-25 and CCL26 may be elevated in isolated asthma, where they are correlated with the presence of eosinophilia. Hence, IL-25 and CCL26 are unlikely to be able to distinguish EGPA from asthma-associated HES (37, 38). Non-specific elevations in the CRP level can also be observed in cases of severe organ injury or concomitant, unrecognized viral infections; this also constitutes a possible limitation of our retrospective study. Given that our CRP cut-off of 36 mg/l was calculated by reference to two other groups of patients with blood eosinophilia and systemic manifestations, we cannot definitively conclude that serum CRP level is a diagnosis tool for the diagnosis of EGPA in Asth+ANCA- patients.

However, we believe that serum CRP could be a useful tool for differentiating between EGPA and other eosinophilic disorders - notably when the value is low. Even though the PPV (98.6 [91.6;99.8]) may change with the prevalence of disease, the high observed Se and Sp values also suggest that CRP is a valuable biomarker in eosinophilic disorders. Although serum CRP levels are high in ANCA+ patients with a certain diagnosis of EGPA or with vasculitis and low in patients with HES, eosinophilic asthma and isolated eosinophilia, a normal or slightly elevated serum CRP level may be more suggestive of an isolated eosinophilic disorder than of an ANCA-associated, vasculitis-like disease.

CONCLUSION

An exhaustive review of all cases cared for our hospital demonstrated that eosinophilic vasculitis and mononeuritis multiplex can also be observed in HES, and so should be added to the list of manifestations that overlap with EGPA. In patients with eosinophilia and systemic manifestations (with or without asthma), our results suggest that a low serum CRP level at diagnosis is suggestive of HES. If confirmed by prospective studies, this finding may facilitate the differential diagnosis of eosinophilic disorders and guide the physician's treatment decision.

ACKNOWLEDGMENTS

We thank Dr. David Fraser (Biotech Communication, Ploudalmézeau, France) for copy-editing assistance.

DECLARATIONS OF INTEREST: none

FUNDING: To carry out the work described in this manuscript, no specific funding was received from any agency in the public, commercial or not-for-profit sectors.

REFERENCES

1. Valent P, Klion AD, Horny H-P, Roufosse F, Gotlib J, Weller PF, et al. Contemporary consensus proposal on criteria and classification of eosinophilic disorders and related syndromes. *J Allergy Clin Immunol*. 2012 Sep;130(3):607–612.e9.
2. Simon H-U, Rothenberg ME, Bochner BS, Weller PF, Wardlaw AJ, Wechsler ME, et al. Refining the definition of hypereosinophilic syndrome. *J Allergy Clin Immunol*. 2010 Jul;126(1):45–9.
3. Jennette JC, Falk RJ, Bacon PA, Basu N, Cid MC, Ferrario F, et al. 2012 revised International Chapel Hill Consensus Conference Nomenclature of Vasculitides. *Arthritis Rheum*. 2013 Jan;65(1):1–11.
4. Sinico RA, Di Toma L, Maggiore U, Bottero P, Radice A, Tosoni C, et al. Prevalence and clinical significance of antineutrophil cytoplasmic antibodies in Churg-Strauss syndrome. *Arthritis Rheum*. 2005 Sep;52(9):2926–35.
5. Comarmond C, Pagnoux C, Khellaf M, Cordier J-F, Hamidou M, Viallard J-F, et al. Eosinophilic granulomatosis with polyangiitis (Churg-Strauss): clinical characteristics and long-term followup of the 383 patients enrolled in the French Vasculitis Study Group cohort. *Arthritis Rheum*. 2013 Jan;65(1):270–81.
6. Cottin V, Bel E, Bottero P, Dalhoff K, Humbert M, Lazor R, et al. Revisiting the systemic vasculitis in eosinophilic granulomatosis with polyangiitis (Churg-Strauss): A study of 157 patients by the Groupe d'Etudes et de Recherche sur les Maladies Orphelines Pulmonaires and the European Respiratory Society Taskforce on

eosinophilic granulomatosis with polyangiitis (Churg-Strauss). *Autoimmun Rev.* 2017 Jan;16(1):1–9.

7. Chaigne B, Terrier B, Thieblemont N, Witko-Sarsat V, Mouthon L. Dividing the Janus vasculitis? Pathophysiology of eosinophilic granulomatosis with polyangiitis. *Autoimmun Rev.* 2016 Feb;15(2):139–45.

8. Healy B, Bibby S, Steele R, Weatherall M, Nelson H, Beasley R. Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies and myeloperoxidase autoantibodies in clinical expression of Churg-Strauss syndrome. *J Allergy Clin Immunol.* 2013 Feb;131(2):571-576.e1-6.

9. Kallenberg CGM. Churg-Strauss syndrome: just one disease entity? *Arthritis Rheum.* 2005 Sep;52(9):2589–93.

10. Cornec D, Cornec-Le Gall E, Fervenza FC, Specks U. ANCA-associated vasculitis - clinical utility of using ANCA specificity to classify patients. *Nat Rev Rheumatol.* 2016 Oct;12(10):570–9.

11. Sablé-Fourtassou R, Cohen P, Mahr A, Pagnoux C, Mouthon L, Jayne D, et al. Antineutrophil cytoplasmic antibodies and the Churg-Strauss syndrome. *Ann Intern Med.* 2005 Nov 1;143(9):632–8.

12. Masi AT, Hunder GG, Lie JT, Michel BA, Bloch DA, Arend WP, et al. The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of Churg-Strauss syndrome (allergic granulomatosis and angiitis). *Arthritis Rheum.* 1990 Aug;33(8):1094–100.

13. Lefèvre G, Ackermann F, Kahn J-E. Hypereosinophilia with asthma and systemic (non-vasculitic) manifestations: Eosinophilic granulomatosis with polyangiitis or hypereosinophilic syndrome? *Autoimmun Rev.* 2017 Feb;16(2):208–9.

14. Kahn JE, Groh M, Lefèvre G. (A Critical Appraisal of) Classification of Hypereosinophilic Disorders. *Front Med.* 2017;4:216.

15. Ogbogu PU, Bochner BS, Butterfield JH, Gleich GJ, Huss-Marp J, Kahn JE, et al. Hypereosinophilic syndrome: a multicenter, retrospective analysis of clinical characteristics and response to therapy. *J Allergy Clin Immunol*. 2009 Dec;124(6):1319–1325.e3.
16. Dulohery MM, Patel RR, Schneider F, Ryu JH. Lung involvement in hypereosinophilic syndromes. *Respir Med*. 2011 Jan;105(1):114–21.
17. Lanham JG, Elkon KB, Pusey CD, Hughes GR. Systemic vasculitis with asthma and eosinophilia: a clinical approach to the Churg-Strauss syndrome. *Medicine (Baltimore)*. 1984 Mar;63(2):65–81.
18. Groh M, Pagnoux C, Baldini C, Bel E, Bottero P, Cottin V, et al. Eosinophilic granulomatosis with polyangiitis (Churg-Strauss) (EGPA) Consensus Task Force recommendations for evaluation and management. *Eur J Intern Med*. 2015 Sep;26(7):545–53.
19. Gioffredi A, Maritati F, Oliva E, Buzio C. Eosinophilic granulomatosis with polyangiitis: an overview. *Front Immunol*. 2014;5:549.
20. Grayson PC, Monach PA, Pagnoux C, Cuthbertson D, Carette S, Hoffman GS, et al. Value of commonly measured laboratory tests as biomarkers of disease activity and predictors of relapse in eosinophilic granulomatosis with polyangiitis. *Rheumatol Oxf Engl*. 2015 Aug;54(8):1351–9.
21. Samson M, Puéchal X, Devilliers H, Ribi C, Cohen P, Stern M, et al. Long-term outcomes of 118 patients with eosinophilic granulomatosis with polyangiitis (Churg-Strauss syndrome) enrolled in two prospective trials. *J Autoimmun*. 2013 Jun;43:60–9.

22. Wechsler ME, Akuthota P, Jayne D, Khoury P, Klion A, Langford CA, et al. Mepolizumab or Placebo for Eosinophilic Granulomatosis with Polyangiitis. *N Engl J Med*. 2017 18;376(20):1921–32.
23. Weller PF, Buley GJ. The idiopathic hypereosinophilic syndrome. *Blood*. 1994 May 15;83(10):2759–79.
24. Roufosse FE, Goldman M, Cogan E. Hypereosinophilic syndromes. *Orphanet J Rare Dis*. 2007 Sep 11;2:37.
25. Oka N, Kawasaki T, Matsui M, Shigematsu K, Unuma T, Sugiyama H. Two subtypes of Churg-Strauss syndrome with neuropathy: the roles of eosinophils and ANCA. *Mod Rheumatol*. 2011 Jun;21(3):290–5.
26. Roufosse F. L4. Eosinophils: how they contribute to endothelial damage and dysfunction. *Presse Medicale Paris Fr* 1983. 2013 Apr;42(4 Pt 2):503–7.
27. Khoury P, Grayson PC, Klion AD. Eosinophils in vasculitis: characteristics and roles in pathogenesis. *Nat Rev Rheumatol*. 2014 Aug;10(8):474–83.
28. Ishizaki J, Takemori A, Suemori K, Matsumoto T, Akita Y, Sada K-E, et al. Targeted proteomics reveals promising biomarkers of disease activity and organ involvement in antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *Arthritis Res Ther*. 2017 Sep 29;19(1):218.
29. Kronbichler A, Kerschbaum J, Gründlinger G, Leierer J, Mayer G, Rudnicki M. Evaluation and validation of biomarkers in granulomatosis with polyangiitis and microscopic polyangiitis. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc*. 2016;31(6):930–6.
30. Weiner M, Goh SM, Mohammad AJ, Hruskova Z, Tanna A, Bruchfeld A, et al. Outcome and treatment of elderly patients with ANCA-associated vasculitis. *Clin J Am Soc Nephrol CJASN*. 2015 Jul 7;10(7):1128–35.

31. Luqmani RA, Bacon PA, Moots RJ, Janssen BA, Pall A, Emery P, et al. Birmingham Vasculitis Activity Score (BVAS) in systemic necrotizing vasculitis. *QJM Mon J Assoc Physicians*. 1994 Nov;87(11):671–8.
32. Khoury P, Zagallo P, Talar-Williams C, Santos CS, Dinerman E, Holland NC, et al. Serum biomarkers are similar in Churg-Strauss syndrome and hypereosinophilic syndrome. *Allergy*. 2012 Sep;67(9):1149–56.
33. Puéchal X, Pagnoux C, Baron G, Quémeneur T, Néel A, Agard C, et al. Adding Azathioprine to Remission-Induction Glucocorticoids for Eosinophilic Granulomatosis With Polyangiitis (Churg-Strauss), Microscopic Polyangiitis, or Polyarteritis Nodosa Without Poor Prognosis Factors: A Randomized, Controlled Trial. *Arthritis Rheumatol Hoboken NJ*. 2017;69(11):2175–86.
34. Terrier B, Bièche I, Maisonobe T, Laurendeau I, Rosenzweig M, Kahn J-E, et al. Interleukin-25: a cytokine linking eosinophils and adaptive immunity in Churg-Strauss syndrome. *Blood*. 2010 Nov 25;116(22):4523–31.
35. Zwerina J, Bach C, Martorana D, Jatzwauk M, Hegasy G, Moosig F, et al. Eotaxin-3 in Churg-Strauss syndrome: a clinical and immunogenetic study. *Rheumatol Oxf Engl*. 2011 Oct;50(10):1823–7.
36. Polzer K, Karonitsch T, Neumann T, Eger G, Haberler C, Soleiman A, et al. Eotaxin-3 is involved in Churg-Strauss syndrome--a serum marker closely correlating with disease activity. *Rheumatol Oxf Engl*. 2008 Jun;47(6):804–8.
37. Cheng D, Xue Z, Yi L, Shi H, Zhang K, Huo X, et al. Epithelial interleukin-25 is a key mediator in Th2-high, corticosteroid-responsive asthma. *Am J Respir Crit Care Med*. 2014 Sep 15;190(6):639–48.

38. Silkoff PE, Laviolette M, Singh D, FitzGerald JM, Kelsen S, Backer V, et al. Identification of airway mucosal type 2 inflammation by using clinical biomarkers in asthmatic patients. *J Allergy Clin Immunol*. 2017 Sep;140(3):710–9.

TABLE S1. Diagnostic criteria for HES and EGPA

Diagnostic criteria for HES (1)

- Peripheral blood hypereosinophilia $>1.5 \times 10^9/L$ (on 2 examinations at least one month apart, excepted in case of progressing, life-threatening end-organ damage requiring immediate therapy), and
- Organ damage and/or dysfunction attributable to tissue eosinophilia, and
- Exclusion of other disorders or conditions as the major cause of organ damage.

The 1990 ACR diagnostic criteria for EGPA (≥ 4 out of 6 criteria required) (2).

- Asthma
- Eosinophilia (more than 10% of the peripheral blood leukocytes)
- Paranasal sinus abnormalities
- Pulmonary infiltrates, non-fixed
- Extravascular eosinophils
- Neuropathy

GERMOP/ERS diagnostic criteria for vasculitis in EGPA (3):

One or more of the following criteria in hypereosinophilic asthma (eosinophils $\geq 1.5 \times 10^9/L$ and/or $\geq 10\%$ of leukocytes)

- Definite vasculitis:
 - 1- biopsy-proven necrotizing vasculitis of any organ, or
 - 2- necrotizing glomerulonephritis or crescentic glomerulonephritis (biopsy proven), or
 - 3- alveolar hemorrhage (defined as bloody bronchoalveolar lavage return with compatible opacities on chest X-ray and/or HRCT), or

- 4- palpable purpura, or
- 5- myocardial infarction due to proven coronaritis (related to the systemic disease, e.g. non-atheromatous coronary stenosis at coronarography or myocardial infarction without coronary atherosclerosis)
- Strong surrogate criteria for vasculitis
 - 1- hematuria associated with red casts or $\geq 10\%$ dysmorphic erythrocytes, or hematuria and 2+ proteinuria on urinalysis (related to the systemic disease, no biopsy)
 - 2- and any organ manifestation other than ENT or bronchopulmonary manifestation associated with a biopsy demonstrating leukocytoclastic capillaritis and/or eosinophilic infiltration of the arterial wall
- Mononeuritis multiplex
- ANCA on an ELISA with at least one extrathoracic, non-ENT manifestation of disease.

GERMOP/ERS diagnostic criteria for hypereosinophilic asthma with systemic (non-vasculitic) manifestations (HASM) (3)

- 1- asthma
- 2- blood eosinophils superior at $1.5 \times 10^9/L$
- 3- any systemic manifestation other than definite polyangiitis or surrogate of vasculitis or mononeuritis
- 4- absence of ANCA

REFERENCE TABLE S1

1. Valent P, Klion AD, Horny H-P, Roufosse F, Gotlib J, Weller PF, et al. Contemporary consensus proposal on criteria and classification of eosinophilic disorders and related syndromes. *J Allergy Clin Immunol*. 2012 Sep;130(3):607–612.e9.
2. Masi AT, Hunder GG, Lie JT, Michel BA, Bloch DA, Arend WP, et al. The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of Churg-Strauss syndrome (allergic granulomatosis and angiitis). *Arthritis Rheum*. 1990 Aug;33(8):1094–100.
3. Cottin V, Bel E, Bottero P, Dalhoff K, Humbert M, Lazor R, et al. Revisiting the systemic vasculitis in eosinophilic granulomatosis with polyangiitis (Churg-Strauss): A study of 157 patients by the Groupe d'Etudes et de Recherche sur les Maladies Orphelines Pulmonaires and the European Respiratory Society Taskforce on eosinophilic granulomatosis with polyangiitis (Churg-Strauss). *Autoimmun Rev*. 2017 Jan;16(1):1–9.

TABLE S2. Review of reported cases of biopsy-proven eosinophilic vasculitis without asthma and/or the EGPA criteria

Ref	Diagnosis made by the investigators	Number of patients	Female/Male	Age	Asthma (Y/N)	HES criteria met	1990 ACR criteria met	Clinical manifestations	AEC (G/L)	CRP level (mg/l)	ESR (mm/h)	Necrotizing vasculitis (Y/N)	Arteriolar thrombosis (Y/N)
1	Eosinophilic multiple thrombosis	n=1	M	30	N	Y	Y	fever, deep vein thrombosis, hepatosplenomegaly, cardiac failure	10.9	5	na	Y	Y
2	Drug related vasculitis	n=30	M (n=21) F (n= 9)	47.9 (mean)	Y (67%)	Y	N	drug related vasculitis				N	N
3	Thromboangiitis obliterans	n=1	M	47	na	Y	N	digital necrosis with arteries occlusion	na	na	na	Y	Y
4	Cutaneous blisters and bowel necrosis	n=1	M	44	Y	Y	N	bullous and purpuric skin lesions, bowel perforation with necrotic gastro intestinal ulcers	24.7	na	na	Y	Y
5	Churg-Strauss syndrome without asthma	n=1	M	38	N	Y	N	episcleritis, pulmonary infiltrates, erythematous skin lesions, peripheral neuropathy	na	na	na	N	N
6	Necrosis of finger tips	n=1	M	31	Y	Y	N	chronic cough, wheezing, digital necrosis, purpuric papules skin lesions	na	na	na	Y	Y
7	Eosinophilic myositis	n=2 /34	M (n=2/2)	40; 45	N	Y	N	recurrent myalgia and swollen thigh	0.5; 3.5	na	43; <5	Y	N
8	RCENV	n=3	F (n= 2/3); M (n= 1/3)	56; 18; 17	N	Y	N	pruritic, erythematous, purpuric papules, angioedema, hepatic vein occlusion (n=1/3),	1.4; 3.6; 6.2	na	10; 112; 61	Y	N
9	Digital arteritis, thrombosis	n= 1	M	37	N	Y	N	digital necrosis with arteries occlusion, Raynaud syndrome	1.4	3	na	N	Y
10	Cerebral sinovenous thrombosis	n=1	M	11	N	na	na	erythematous skin lesions, cerebral venous thrombosis	8.6	na	na	Y	N

11	RCENV	n=1	F	81	N	Y	N	pruritic, necrotic purpuric, papular skin lesions, angioedema	3.9	48.8	70	Y	N
12	RCENV	n=2	M (n=2/2)	34 ; 24	N	Y	N	pruritic, erythematous skin lesions, mononeuritis multiplex (n= 1/2), digital necrosis (n= 1/2)	9.9; 8.6	na	na	Y	N
13	RCENV	n=1	F	27	N	Y	N	pruritic violaceous swelling, sore throat, fever, angioedema, purpura	6.9	na	na	Y	N
14	RCENV	n=2	M (n=2/2)	58; 21	N	Y	N	pruritic, erythematous, purpuric papules, deep vein thrombosis (n= 2/2), pulmonary embolism (n=1/2), left renal vein thrombosis (n=1/2), ischemic stroke (n=1/2)	4.0; 3,6	na	na	Y	Y (n= 1/2)
15	RCENV	n=1	F	53	N	Y	N	recurrent pruritic urticarial erythematous skin lesions	< 0.5	"normal"	"normal"	Y	N
16	Multiple peripheral artery occlusions	n=1	F	32	N	Y	N	multiple necrosis of the fingers, with arterial occlusion	16.3	na	na	N	N
17	RCENV	n=1	na	na	na	Y	N	pruritic purpuric papules, angioedema	na	na	na	Y	N
18	Eosinophilic mesenteric vasculitis with thrombosis	n=1	M	13	N	Y	N	splenomegaly, hepatomegaly, thrombosis of hepatic veins, splenic and bowel infarction, deep vein thrombosis	5.8	na	na	Y	Y
19	RCENV	n=1	M	25	N	Y	N	pruritic papules	5.8	1.12	11	Y	N
20	Eosinophilic Vasculitis Syndrome	n=1/2	M	21	N	na	N	fever, erythematous necrosis papules, cough, sinusitis	2.9	na	na	N	N
21	Thrombotic eosinophilic vasculitis	n=1	F	93	N	na	N	fever, cellulitis, purpura with necrosis lesions,	1.0	na	na	Y	Y

22	Eosinophilic vasculitis	n=1	F	55	N	Y	N	pruritic erythematous skin lesions, digital necrosis with arteries occlusion, Raynaud syndrome	na	na	na	N	N
23	RCENV	n=1	M	57	N	Y	N	pruritic and necrotizing papules skin lesions, purpura, angioedema.	11.8	14.5	32	Y	Y
24	RCENV	n=1	F	80	N	Y	N	fever, multiple purpuric patches	10.0	na	na	N	N
25	Eosinophilic vasculitis syndrome	n=1	M	23	N	Y	N	necrotic skin ulcers with artery occlusion, deep vein thrombosis, pulmonary embolism	27.7	na	na	N	N
26	RCENV	n=1	F	44	N	Y	N	pruritic and erythematous skin lesions, angioedema	< 0.5	na	na	Y	N
27	RCENV	n=1	F	55	N	Y	N	recurrent pruritic erythema, Budd Chiari	0.7	"mild elevation"	na	Y	N

Ref, Reference; RCENV, Recurrent cutaneous eosinophilic vasculitis; Y, Yes; N, No; CRP, C-reactive protein; ESR, erythrocyte sedimentation rate; HES, hypereosinophilic syndrome; ACR, American College of Rheumatology; M, Male; F, female, na, not available, AEC, absolute eosinophil count.

REFERENCES TABLE S2

1. Ishii T, Koide O, Hosoda Y, Takahashi R. Hypereosinophilic multiple thrombosis. A proposal of a new designation of disseminated eosinophilic "collagen disease." *Angiology*. 1977 Jun;28(6):361–75.
2. Mullick FG, McAllister HA, Wagner BM, Fenoglio JJ. Drug related vasculitis. Clinicopathologic correlations in 30 patients. *Hum Pathol*. 1979 May;10(3):313–25.
3. Ferguson GT, Starkebaum G. Thromboangiitis obliterans associated with idiopathic hypereosinophilia. *Arch Intern Med*. 1985 Sep;145(9):1726–8.

4. Parker CJ. Hypereosinophilic syndrome with cutaneous blisters and bowel necrosis. *Australas J Dermatol*. 1988;29(2):103–6.
5. Chen KR, Ohata Y, Sakurai M, Nakayama H. Churg-Strauss syndrome: report of a case without preexisting asthma. *J Dermatol*. 1992 Jan;19(1):40–7.
6. Takekawa M, Imai K, Adachi M, Aoki S, Maeda K, Hinoda Y, et al. Hypereosinophilic syndrome accompanied with necrosis of finger tips. *Intern Med Tokyo Jpn*. 1992 Nov;31(11):1262–6.
7. Kaufman LD, Kephart GM, Seidman RJ, Buhner D, Qvarfordt I, Nässberger L, et al. The spectrum of eosinophilic myositis. Clinical and immunopathogenic studies of three patients, and review of the literature. *Arthritis Rheum*. 1993 Jul;36(7):1014–24.
8. Chen KR, Pittelkow MR, Su D, Gleich J, Newman W, Leiferman KM. Recurrent cutaneous necrotizing eosinophilic vasculitis. A novel eosinophil-mediated syndrome. *Arch Dermatol*. 1994 Sep;130(9):1159–66.
9. Hachulla E, Hatron PY, Janin A, Robert Y, Devulder B. [Digital arteritis, thrombosis and hypereosinophilic syndrome: an uncommon complication]. *Rev Med Interne*. 1995;16(6):434–6.
10. Schulman H, Hertzog L, Zirkin H, Hertzanu Y. Cerebral sinovenous thrombosis in the idiopathic hypereosinophilic syndrome in childhood. *Pediatr Radiol*. 1999 Aug;29(8):595–7.
11. Launay D, Delaporte E, Gillot JM, Janin A, Hachulla E. An unusual cause of vascular purpura: recurrent cutaneous eosinophilic necrotizing vasculitis. *Acta Derm Venereol*. 2000 Oct;80(5):394–5.
12. Jang KA, Lim YS, Choi JH, Sung KJ, Moon KC, Koh JK. Hypereosinophilic syndrome presenting as cutaneous necrotizing eosinophilic vasculitis and Raynaud's phenomenon complicated by digital gangrene. *Br J Dermatol*. 2000 Sep;143(3):641–4.

13. Sakuma-Oyama Y, Nishibu A, Oyama N, Saito M, Nakamura K, Kaneko F. A case of recurrent cutaneous eosinophilic vasculitis: successful adjuvant therapy with suplatast tosilate. *Br J Dermatol*. 2003 Oct;149(4):901–3.
14. Liao Y-H, Su Y-W, Tsay W, Chiu H-C. Association of cutaneous necrotizing eosinophilic vasculitis and deep vein thrombosis in hypereosinophilic syndrome. *Arch Dermatol*. 2005 Aug;141(8):1051–3.
15. Tsunemi Y, Saeki H, Ihn H, Tamaki K. Recurrent cutaneous eosinophilic vasculitis presenting as annular urticarial plaques. *Acta Derm Venereol*. 2005;85(4):380–1.
16. Kim S-H, Kim T-B, Yun Y-S, Shin J-I, Oh I-Y, Sir J-J, et al. Hypereosinophilia presenting as eosinophilic vasculitis and multiple peripheral artery occlusions without organ involvement. *J Korean Med Sci*. 2005 Aug;20(4):677–9.
17. Tanglertsampan C, Tantikun N, Noppakun N, Pinyopornpanit V. Indomethacin for recurrent cutaneous necrotizing eosinophilic vasculitis. *J Med Assoc Thail Chotmaihet Thangphaet*. 2007 Jun;90(6):1180–2.
18. Abdulwahab A, Almoallim H, Khan N. Isolated eosinophilic mesenteric vasculitis with extensive thrombosis and splenic infarction in a 13-year-old boy. *Clin Rheumatol*. 2007 Feb;26(2):254–7.
19. Hayashi M, Kawaguchi M, Mitsunashi Y, Suzuki T. Case of hypereosinophilic syndrome with cutaneous necrotizing vasculitis. *J Dermatol*. 2008 Apr;35(4):229–33.
20. Song JK, Jung SS, Kang SW. Two cases of eosinophilic vasculitis with thrombosis. *Rheumatol Int*. 2008 Feb;28(4):371–4.
21. Nakajima H, Nakamura T. Thrombotic eosinophilic vasculitis. *Clin Exp Dermatol*. 2009 Jul;34(5):e69-71.

22. Jandus P, Bianda N, Alerci M, Gallino A, Marone C. Eosinophilic vasculitis: an inhabitual and resistant manifestation of a vasculitis. *VASA Z Gefasskrankheiten*. 2010 Nov;39(4):344–8.
23. Li W, Cao W, Song H, Ciu Y, Lu X, Zhang F. Recurrent cutaneous necrotizing eosinophilic vasculitis: a case report and review of the literature. *Diagn Pathol*. 2013 Nov 7;8:185.
24. Sugiyama M, Nozaki Y, Ikoma S, Kinoshita K, Funauchi M. Successful treatment with tacrolimus in a case of the glucocorticoid-dependent recurrent cutaneous eosinophilic vasculitis. *Ann Dermatol*. 2013 May;25(2):252–4.
25. Law AD, Varma S, Varma N, Khadwal A, Prakash G, Suri V, et al. Eosinophilic Vasculitis: Time for Recognition of a New Entity? *Indian J Hematol Blood Transfus*. 2014 Sep;30(Suppl 1):325–30.
26. Riyaz N, Sasidharanpillai S, Hazeena C, Aravindan KP, Bindu CS, Silpa KN. Recurrent Cutaneous Eosinophilic Vasculitis: A Rare Entity. *Indian J Dermatol*. 2016 Apr;61(2):235.
27. Sawada C, Taniai M, Kawashima M, Ishiguro N. Recurrent cutaneous eosinophilic vasculitis. *Eur J Dermatol EJD*. 2016 Feb;26(1):108–9.

AUTEUR : Nom : LEURS

Prénom : Amélie

Date de Soutenance : 28 mars 2018

Titre de la Thèse : Apport de la C-Reactive Protein dans les diagnostics différentiels des maladies à éosinophiles. Etude monocentrique et rétrospective sur 166 patients

Thèse - Médecine - Lille 2018

Cadre de classement : Immunologie

DES + spécialité : Médecine interne

Mots-clés : Granulomatose Eosinophilique avec Polyangéite; Syndrome Hyperéosinophilique; C-Reactive Protein; Asthme Hyperéosinophilique ; Hyperéosinophilie.

Résumé : **Contexte :** L'éosinophilie sanguine ($> 500/\text{mm}^3$) peut être observée dans de nombreuses pathologies. Parmi les maladies à éosinophiles, 2 d'entre elles peuvent constituer un défi diagnostique : le Syndrome Hyperéosinophilique (SHE) et la Granulomatose Eosinophilique avec Polyangéite (GEPA). Nous avons réalisé une étude comparative de patients hyperéosinophiliques présentant des manifestations systémiques, associées ou non un asthme et, avec ou sans anticorps anticytoplasme des polynucléaires (ANCA) de spécificité myéloperoxydase (MPO), afin de proposer des critères discriminants entre EGPA et HES.

Méthodes : Dans cette étude rétrospective, observationnelle et monocentrique, nous avons comparé les caractéristiques clinico-biologiques des patients avec (1) une hyperéosinophilie supérieure à 1G/L et, (2) des ANCA de spécificité MPO et/ou des manifestations systémiques extrapulmonaire en relation avec une hyperéosinophilie tissulaire. Dans un second temps, nous nous sommes intéressés à la valeur de la C-reactive protein (CRP) et avons comparé les manifestations cliniques des patients asthmatiques ANCA négatifs avec les groupes de CRP élevée et basse.

Résultats : Parmi les 552 patients, 166 patients étaient inclus et répartis dans 3 groupes : le groupe GEPA ANCA+ (Groupe 1, $n=18$), le groupe Asthme ANCA- (Groupe 2, $n=65$) et le groupe Non-asthmatique ANCA- (Groupe 3, $n=83$). Dans ce dernier groupe, on rapportait 10 cas de vascularite sans profil de type GEPA associé. Le groupe 1 présentait le taux de CRP le plus élevé (médiane 76.5mg/L [$23-131$], le groupe 3 la plus basse [médiane 3mg/L [$0-12$] et le groupe 2 un taux intermédiaire (médiane 35 mg/L [$8-73$]). Le groupe 2 était hétérogène contenant aussi bien des patients avec un diagnostic de SHE que de GEPA. En utilisant le groupe GEPA ANCA+ comme un modèle diagnostique de GEPA et, le groupe Non asthmatique ANCA- comme un modèle en faveur d'un SHE, nous avons élaboré une courbe ROC (Receiver Operating Characteristic). Le meilleur cut-off retrouvé pour le taux de CRP, en faveur d'un diagnostic de SHE, était $< 36\text{ mg/L}$ avec une sensibilité de $94,8\%$ [$87,2 ; 98.6$] et une spécificité de $97,3\%$ [$69.8 ; 99.8$]. Dans le groupe Asthme ANCA-, les patients avec une CRP inférieure au seuil de 36 mg/L remplissaient moins fréquemment les critères de l'American College of Rheumatology 1990 (37% vs 83% , $p=0,0003$), ainsi que les critères du Groupe d'Etudes et de Recherche sur les Maladies Orphelines Pulmonaires et de l'European Respiratory Society 2016 (GEPA) (13% vs 55% , $p = 0,0007$), présentaient moins de purpura (3% vs 28% , $p=0,0122$) et, de mononévrite (7% vs 31% , $p=0,0163$).

Conclusion : Chez les patients asthmatiques ou non, avec une hyperéosinophilie et des manifestations systémiques, notre étude suggère qu'un taux faible de CRP est en faveur d'un diagnostic de SHE.

Composition du Jury :

Président : Monsieur le Professeur Pierre-Yves HATRON

Asseseurs : Monsieur le Professeur David LAUNAY, Madame le Docteur Cécile CHENIVESSE, Monsieur le Docteur Jean-Emmanuel KAHN

Directeur de Thèse : Monsieur le Docteur Guillaume LEFEVRE