

DESRIPTIF

Madame B, 72 ans, a été hospitalisée en médecine interne pour altération de l'état général et syndrome inflammatoire. Ses antécédents comprennent un diabète de type 2 non insulino requérant, une hypertension artérielle équilibrée et une hystérectomie il y a quinze ans. Elle décrit une asthénie depuis deux mois et demi, avec une perte d'appétit et de poids de cinq kilogrammes. Accompagnent cette altération de l'état général, des acouphènes de l'oreille gauche, une conjonctivite il y a dix jours et des épisodes d'arthralgies d'heure matinal des genoux, des épaules et de la cheville droite. L'interrogatoire retrouve la notion de sinusites chroniques depuis plusieurs années. L'examen clinique est strictement normal, notamment les artères temporales sont bien battantes. Au niveau biologique, la patiente présente un syndrome inflammatoire avec une vitesse de sédimentation à 95 mm à la première heure et une CRP à 157 mg/L, une insuffisance rénale avec une créatinine à 162 µmol/L avec une protéinurie et une hématurie à la bandelette urinaire.

D'un point de vue immunologique, le tracé immunoelectrophorétique est normal. Aucune anomalie qualitative ni quantitative des immunoglobulines n'est observée.

Un examen par immunofluorescence indirecte (IFI) est réalisé qui retrouve une positivité au 1/640 (figure 1).

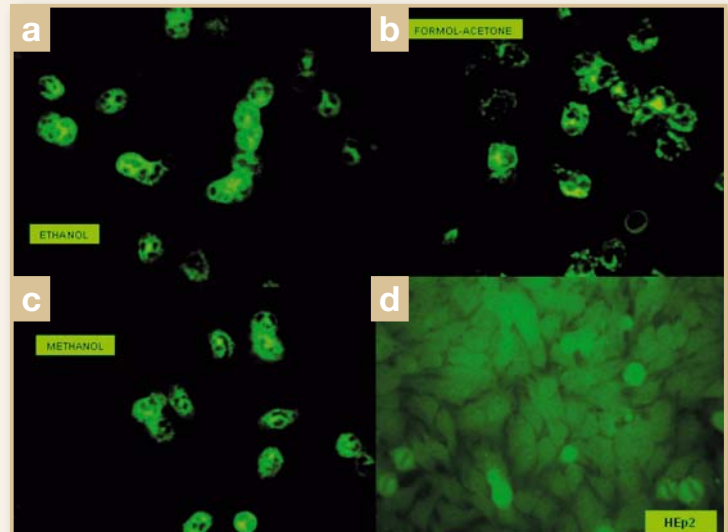


Figure 1 – IFI sur polynucléaires neutrophiles humains (PNN). Les lames commerciales (Euroimmun®, distribuées par BioAdvance) comportent dans chaque puits quatre substrats distincts : des PNN fixés par l'éthanol (1a), des PNN fixés par le formol (1b), des PNN fixés par le méthanol (1c) et des cellules HEp-2 (1d). Le sérum de la patiente est dilué au 1/20. La lecture se fait au microscope à fluorescence équipé en épillumination au grossissement x400 (Axioskop, Zeiss). Grossissement x400. Photo : G Renier.

QUESTIONS

1. Décrivez cet aspect de fluorescence.
2. Quel auto-anticorps suspectez-vous ?
3. Quels sont les examens complémentaires immunologiques à réaliser ?
4. Quelle pathologie suspectez-vous ?

RÉPONSES AU VERSO



a Laboratoire d'immunologie et d'allergologie
Centre hospitalier universitaire d'Angers
Hôpital Larrey
4, rue Larrey
49033 Angers cedex 01

* Correspondance
AlChevailler@chu-angers.fr

Maxime Boyer^a, Céline Beauvillain^a, Pascale Jeannin^a,
Gilles Renier^a, Alain Chevailler^{a,*}

© 2010 – Elsevier Masson SAS – Tous droits réservés.

R1 Aspect d'IFI sur PNN et cellules HEp-2

Sur PNN fixés par l'éthanol, on observe une fluorescence cytoplasmique granulaire diffuse avec le plus souvent un renforcement entre les lobes du noyau. Sur PNN fixés par le formol, qui est un fixateur plus agressif comme en témoigne la morphologie plus tourmentée des cellules, la fluorescence reste

cytoplasmique granulaire diffuse, avec le même renforcement inter-lobaire, mais avec des grains plus grossiers. Sur PNN fixés par le méthanol, l'aspect est identique à celui observé avec les PNN fixés par l'éthanol. La recherche d'anticorps antinucléaires sur cellules HEp-2 est négative.

R2 Nature de l'auto-anticorps

Cet aspect est typique d'ANCA (antineutrophil cytoplasmic autoantibodies) et plus particulièrement de **cANCA** (pour cytoplasmique) qui reconnaissent principalement la protéinase 3 (**PR3**). Il est à distinguer des pANCA (p pour périnucléaire)

ou des aANCA (atypique) qui sont les deux autres aspects de fluorescence [1]. La distinction des pANCA des anticorps antinucléaires est la principale difficulté de lecture, solutionnée par l'utilisation de fixateurs alternatifs (formol) [2].

R3 Examens complémentaires immunologiques à réaliser

Une fois le dépistage d'ANCA effectué, si ce dernier est positif, il est nécessaire de caractériser leur spécificité. Pour cette patiente, il sera important de rechercher une spécificité des ANCA vis-à-vis de la PR3. Cela nécessite l'utilisation de méthodes en phase solide comme l'enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) ou l'immunodot. L'antigène, plus ou moins purifié, est directement ou indirectement fixé dans des puits (ELISA) ou sur des bandes de nitrocellulose (immunodot). Une autre méthode en phase solide, plus récemment déve-

loppée, est le multiplexage [3]. Toutefois ses désavantages sont les mêmes que ceux de l'ELISA et de l'immunodot. Ils concernent la possible perte de l'immunogénicité de l'antigène après sa fixation sur la surface solide. Comme les anticorps antinucléaires, les ANCA sont une famille d'auto-anticorps hétérogènes, reconnaissant différentes cibles. Le seul aspect de fluorescence a une moindre valeur prédictive que l'identification de la cible auto-antigénique pour le diagnostic des maladies associées.

R4 Pathologie suspectée

Les ANCA sont d'excellents marqueurs des vascularites primitives nécrosantes [4]. Les ANCA sont une des découvertes qui ont révolutionné l'immunologie clinique de ces vingt dernières années. L'IFI reste la technique de référence en première intention pour le dépistage. Les travaux d'identification des cibles auto-antigéniques ont débouché sur la disponibilité de tests en phase solide, ELISA, immunodot et multiplexage, qui sont les tests obligatoires de confirmation. Les résultats de ces deux types d'examen doivent être interprétés simultanément et requièrent une étroite collaboration entre le clinicien prescripteur et le biologiste pour une correcte interprétation [2]. Alors que les cANCA de titre élevé et de spécificité anti-PR3 sont le plus souvent associés avec la maladie de Wegener, les pANCA sont présents dans une plus grande variété de pathologies, avec ou

sans signes de vascularite, et dirigés contre des cibles variées. La MPO est la plus fréquemment retrouvée, mais néanmoins près de la moitié des cibles des pANCA reste non identifiée. Cependant, un titre élevé de pANCA de spécificité anti-MPO est fortement suspect d'accompagner une micropolyangéite ou un syndrome de Churg et Strauss.

Au vu de la clinique (atteinte ORL, pulmonaire, articulaire, rénale), ainsi que de la présence d'ANCA dirigés contre la PR3, la pathologie à évoquer est la **granulomatose de Wegener**. La ponction biopsie rénale s'impose compte tenu de l'atteinte rénale. En effet, les ANCA sont présents dans plus de 90 % des formes actives de la maladie. Ces derniers ont classiquement un aspect de type cANCA et sont en majorité dirigés contre la PR3 [5].

Références

[1] Savige JA, Paspaliaris B, Silvestrini R, Davies D, Nikoloutsopoulos T, Sturgess A, et al. A review of immunofluorescent patterns associated with antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) and their differentiation from other antibodies. *J Clin Pathol* 1998;51:568-75.

[2] Beauvillain C, Delneste Y, Renier G, Jeannin P, Subra JF, Chevailler A. Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies: how should the biologist manage them? *Clin Rev Allergy Immunol* 2008;35(1-2):47-58.

[3] Olsson N. Apport de la technologie Luminex pour la recherche des auto-anticorps. 3^e colloque du GEAI. *Rev Fr Lab* 2004;361bis:49-52.

[4] Cohen Tervaert JW, Damoiseaux J. Fifty years of antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) testing: do we need to revise the international consensus statement on testing and reporting on ANCA? *APMIS Suppl* 2009;127:55-9.

[5] Moosig F, Lamprecht P, Gross WL. Wegener's granulomatosis: the current view. *Clin Rev Allergy Immunol* 2008;35(1-2):19-21.