



Histoire des anticorps anti-polynucléaires

René-Louis HUMBEL

L'histoire mouvementée des anticorps anti-polynucléaires peut être divisée en deux périodes. La première se rapporte à la découverte des anticorps anti-noyau, la seconde à celle des anticorps anti-cytoplasme des granulocytes.

I. Anticorps anti-noyau des polynucléaires

L'histoire des anticorps anti-polynucléaires débute, comme celle des anticorps antinucléaires, quelques années seulement après la description par Albert Coons (1942) de la technique d'immunofluorescence [1]. En 1959, Paul Calabresi et son équipe appliquent la technique à la recherche d'anticorps dans le sérum de malades présentant une leucopénie [2]. Ils utilisent pour cela des étalements de sang humain fixés à l'éthanol. La présence d'anticorps anti-noyau des granulocytes neutrophiles est observée avec le sérum des patients atteints de lupus, de polyarthrite rhumatoïde et de syndrome de Felty. Malgré le marquage exclusif du noyau des polynucléaires, les auteurs concluent à la présence d'anticorps anti-leucocytes. En 1960, la même équipe fait l'intéressante observation de la présence de ces mêmes anticorps chez les malades atteints de rectocolite hémorragique [3]. Thayer signale peu après que ces anticorps sont également retrouvés chez certains membres des familles de sujets souffrant de rectocolite hémorragique [4]. En 1964, Faber et col de Copenhague confirment que les anticorps anti-leucocytes présents dans le sérum d'une femme atteinte de polyarthrite rhumatoïde réagissent sélectivement avec le noyau des polynucléaires [5]. Alan Wiik en 1980 [6] et Henrik Nielsen en 1983 [7] confirment l'existence des anticorps anti-noyau des granulocytes dans la rectocolite hémorragique et introduisent le terme de GS-ANA (granulocyte specific antinuclear antibodies). Snook et col, en 1989, utilisent pour la première fois un substrat constitué de granulocytes isolés du sang humain par le Ficoll pour confirmer la spécificité des anticorps pour le noyau des polynucléaires neutrophiles [8]. En 1990, Saxon et col réalisent une étude détaillée sur les GS-ANA en utilisant des polynucléaires fixés par le méthanol [9]. Ces auteurs rapportent, pour la première fois, l'aspect périnucléaire (pANCA) c'est-à-dire un marquage fluorescent plus intense en périphérie des noyaux. Billing, en 1995, va confirmer la

Sommaire

- page 1
Histoire des anticorps anti-polynucléaires
- page 4
Physiopathologie des vascularites à ANCA
- page 15
Détection des ANCA par immunofluorescence indirecte
- page 24
ANCA et vascularites
- page 36
ANCA et maladie de Churg et Strauss
- page 38
Anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles (ANCA) associés aux maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) et aux hépatopathies auto-immunes
- page 41
Anticorps anti-granulocytes dans la rectocolite hémorragique
- page 45
Les anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles (ANCA) en dehors des vascularites, des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin et des hépatopathies
- page 54
Les anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles de spécificités autres qu'anti-protéinase 3 ou anti-myéloperoxydase : corrélations clinico-biologiques
- page 64
Quand et comment rechercher les ANCA-MPO et -PR3 ? Comment en interpréter les résultats ? Expérience des laboratoires d'immunologie des CHU de Lille et Marseille.

localisation nucléaire de l'antigène reconnu par les anticorps et il va leur donner l'appellation de NANA (nuclear anti-neutrophil antibodies) [10]. L'antigène va être localisé par Vidrich sur la face interne de la membrane nucléaire suggérant son association avec l'hétérochromatine [11]. Birgit Terjung et Ulrich Spengler vont proposer l'appellation de pANNA (perinuclear antineutrophil nuclear antibodies) [12]. Vidrich, avec l'équipe de Targan, va montrer que le traitement préalable des granulocytes par l'ADNase abolit la réactivité avec les anticorps [11]. Rapidement plusieurs équipes vont tenter d'identifier l'antigène cible des anticorps de la rectocolite hémorragique. Cohavy, en 1999, va l'identifier à l'histone H1 [13] et, la même année, Sobajima l'identifie aux protéines associées à la chromatine HMG1 et HMG2 [14]. Terjung, en 1998, propose la lamine [15], puis, en 2000, une protéine de 50 kD non identifiée [12]. De nombreuses équipes vont rapporter l'existence de réactions avec des constituants cytoplasmiques, la β -glucuronidase [16], la cathepsine G [17], la lactoferrine [18], l'élastase leucocytaire et le lysozyme [19], la BPI [20], la catalase et l' α -éolase [21], et enfin, récemment, l'isoforme 5 de la β -tubuline [22]. Aucune de ces spécificités n'a pu être confirmée pour le moment, ce qui valide rétrospectivement le terme de xANCA (ANCA de nature indéterminée) proposé dès 1990 pour désigner l'aspect périnucléaire observé en immunofluorescence sur les granulocytes fixés à l'éthanol et sur ceux fixés au méthanol [23].

Le terme aANCA (pour atypical ANCA) introduit par Savige dès 1999 [24] est encore utilisé par certains auteurs [25], mais c'est un terme tout à fait impropre puisque l'aspect est typiquement pANCA et non atypique. Les anticorps anti-noyau des granulocytes (pANCA, xANCA, NANA, pANNA) se sont révélés être des marqueurs sérologiques utiles au diagnostic de la rectocolite hémorragique et de la cholangite sclérosante primitive.

2. Anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires

En 1982, l'australien Davies découvre l'existence d'anticorps marquant le cytoplasme des polynucléaires chez des malades atteints d'une glomérulonéphrite nécrisante segmentaire et focale [26]. Les anticorps ne marquent que les granulocytes humains et pas ceux du sang des rongeurs. C'est la seule précision sur ces anticorps que l'on peut lire dans ce court article. En 1985, Van der Woude, de Leiden, en collaboration avec l'équipe d'Alan Wiik de Copenhague, fait l'importante découverte, dans le sérum des sujets atteints de la maladie de Wegener, d'anticorps marquant le cyto-

plasme des polynucléaires fixés au formol [27]. Ces anticorps furent dénommés ACPA (anticytoplasmic antibodies) puis ANCA (antineutrophil cytoplasmic antibodies). Ils marquent le cytoplasme des granulocytes neutrophiles et celui des monocytes. La spécificité de ces anticorps pour la maladie de Wegener est rapidement confirmée par de nombreuses études. De l'autre côté de l'Atlantique, Falk et Jennette rapportent en 1988 l'existence d'anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires donnant un aspect particulier sur des polynucléaires fixés à l'éthanol, à savoir un marquage périnucléaire homogène [28]. Cet aspect devient cytoplasmique sur des granulocytes fixés au formol. Les auteurs identifient en même temps l'antigène cible, la myéloperoxydase. L'explication de la localisation de la fluorescence suivant le fixateur utilisé se trouve déjà dans un article de Lee publié en 1991 [29]. La fixation à l'éthanol entraîne une libération de la myéloperoxydase des granules cytoplasmiques et, du fait de sa charge fortement cationique, celle-ci se lie à la chromatine anionique du noyau, d'où l'aspect pANCA. Par la fixation avec le formol, les granules ne sont pas lysés et la myéloperoxydase reste localisée dans le cytoplasme, d'où l'aspect cANCA. Entretemps, plusieurs équipes se sont lancées dans l'identification de la cible antigénique des cANCA caractérisant la maladie de Wegener. Niles, en 1989, identifie dans l'extrait de granulocytes une protéine de 29 kD ayant une séquence homologue avec les membres de la famille des sérine-protéinases, qui réagit avec les sérums cANCA positifs [30]. Lüdemann, en 1990, confirme que cette protéinase correspond à la protéinase 3 [31]. Les anticorps anti-PR3 se sont révélés présenter une spécificité élevée pour la maladie de Wegener. D'autres spécificités antigéniques ont également été décrites mais sans spécificité de maladie, la lactoferrine [32], l'élastase [33], la BPI [34], l'azurocidine [35], l' α -éolase [36].

Les ANCA sont ainsi devenus des marqueurs de grande utilité pour le diagnostic de la maladie de Wegener, la polyangéite microscopique et la maladie de Churg-Strauss.

Références

- [1] Coons AH, Creech HJ, Jones RN, Berliner E. The demonstration of pneumococcal antigen in tissues by the use of fluorescent antibody. *J Immunol.* 1942;45:159-70.
- [2] Calabresi P, Edwards EA, Schilling RF. Fluorescent antiglobulin studies in leukopenic and related disorders. *J Clin Invest.* 1959;38:2091-100.
- [3] Thayer W, Spiro HM, Calabresi P. Antinuclear globulins in ulcerative colitis. *Clin Res.* 1960;8:369.

- [4] *Thayer WR, Spiro HM*. Protein abnormalities in ulcerative colitis patients and their families. *Gastroenterology*. 1963;44:444-7.
- [5] *Faber V, Elling P, Norup G, Mansa B, Nissen NI*. An antinuclear factor specific for leucocytes. *Lancet*. 1964;2:344-5.
- [6] *Wiik A*. Granulocyte-specific antinuclear antibodies. Possible significance for the pathogenesis, clinical features and diagnosis of rheumatoid arthritis. *Allergy*. 1980;35:263-89.
- [7] *Nielsen H, Wiik A, Elmgreen J*. Granulocyte specific antinuclear antibodies in ulcerative colitis. Aid in differential diagnosis of inflammatory bowel disease. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand [C]*. 1983;91:23-6.
- [8] *Snook JA, Chapman RW, Fleming K, Jewell DP*. Anti-neutrophil nuclear antibody in ulcerative colitis, Crohn's disease and primary sclerosing cholangitis. *Clin Exp Immunol*. 1989;76:30-3.
- [9] *Saxon A, Shanahan F, Landers C, Ganz T, Targan S*. A distinct subset of antineutrophil cytoplasmic antibodies is associated with inflammatory bowel disease. *J Allergy Clin Immunol*. 1990;86:202-10.
- [10] *Billing P, Tahir S, Calfin B, Gagne G, Cobb L, Targan S, et al*. Nuclear localization of the antigen detected by ulcerative colitis-associated perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies. *Am J Pathol*. 1995;147:979-87.
- [11] *Vidrich A, Lee J, James E, Cobb L, Targan S*. Segregation of pANCA antigenic recognition by DNase treatment of neutrophils: ulcerative colitis, type 1 autoimmune hepatitis, and primary sclerosing cholangitis. *J Clin Immunol*. 1995;15:293-9.
- [12] *Terjung B, Spengler U, Sauerbruch T, Worman HJ*. „Atypical p-ANCA“ in IBD and hepatobiliary disorders react with a 50-kilodalton nuclear envelope protein of neutrophils and myeloid cell lines. *Gastroenterology*. 2000;119:310-22.
- [13] *Cohavy O, Harth G, Horwitz M, Eggena M, Landers C, Sutton C, et al*. Identification of a novel mycobacterial histone H1 homologue (HupB) as an antigenic target of pANCA monoclonal antibody and serum immunoglobulin A from patients with Crohn's disease. *Infect Immun*. 1999;67:6510-7.
- [14] *Sobajima J, Ozaki S, Uesugi H, Osakada F, Inoue M, Fukuda Y, et al*. High mobility group (HMG) non-histone chromosomal proteins HMG1 and HMG2 are significant target antigens of perinuclear anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in autoimmune hepatitis. *Gut*. 1999;44:867-73.
- [15] *Terjung B, Herzog V, Worman HJ, Gestmann I, Bauer C, Sauerbruch T, et al*. Atypical antineutrophil antibodies with perinuclear fluorescence in chronic inflammatory bowel diseases and hepatobiliary disorders colocalize with nuclear lamina proteins. *Hepatology*. 1998;28:332-40.
- [16] *Nässberger L, Ljungh A, Schumacher G, Kollberg B*. Beta-glucuronidase antibodies in ulcerative colitis. *Lancet* 1992;340:734-5.
- [17] *Halbwachs-Mecarelli L, Nusbaum P, Noël LH, Reumaux D, Erlinger S, Grünfeld JP, et al*. Antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) directed against cathepsin G in ulcerative colitis, Crohn's disease and primary sclerosing cholangitis. *Clin Exp Immunol*. 1992;90:79-84.
- [18] *Peen E, Almer S, Bodemar G, Rydén B-O, Sjölin C, Tejle K, et al*. Anti-lactoferrin antibodies and other types of ANCA in ulcerative colitis, primary sclerosing cholangitis, and Crohn's disease. *Gut*. 1993;34:56-62.
- [19] *Kossa K, Coulthart A, Ives CT, Pusey CD, Hodgson HJ*. Antigen specificity of circulating antineutrophil cytoplasmic antibodies in inflammatory bowel disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 1995;7:783-9.
- [20] *Stoffel MP, Csernok E, Gross WL*. Target antigen for anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in inflammatory bowel disease. *Scand J Gastroenterol*. 1996;31:943-4.
- [21] *Rooszendaal C, Zhao MH, Horst G, Lockwood CM, Kleibeuker JH, Limburg PC, et al*. Catalase and alpha-enolase: two novel granulocyte autoantigens in inflammatory bowel disease. *Clin Exp Immunol*. 1998;112:10-6.
- [22] *Terjung B, Muennich M, Gottwein J, Soehne J, Worman HJ, Sauerbruch T, et al*. Identification of myeloid-specific tubulin-beta isotype 5 as target antigen of antineutrophil cytoplasmic antibodies in autoimmune liver disorders. *Hepatology*. 2005;42 suppl 1:288A.
- [23] *Rump JA, Schölmerich J, Gross V, Roth M, Helfesrieder R, Rautmann A, et al*. A new type of perinuclear cytoplasmic antibody (p-ANCA) in active ulcerative colitis but not in Crohn's disease. *Immunobiology*. 1990;181:406-13.
- [24] *Savige J, Gillis D, Benson E, Davies D, Esnault V, Falk RJ, et al*. International consensus statement on testing and reporting of antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA). *Am J Clin Pathol*. 1999;111:507-13.
- [25] *Terjung B, Spengler U*. Atypical p-ANCA in PSC and AIH: a hint toward a “leaky gut”? *Clin Rev Allergy Immunol*. 2009;36:40-51.
- [26] *Davies DJ, Moran JE, Niall JF, Ryan GB*. Segmental necrotising glomerulonephritis with

antineutrophil antibody: possible arbovirus aetiology. *Br Med J*. 1982;285:606.

[27] *Van der Woude FJ, Rasmussen N, Lobatto S, Wiik A, Permin H, van Es LA, et al.* Autoantibodies against neutrophils and monocytes: tool for diagnosis and marker of disease activity in Wegener's granulomatosis. *Lancet*. 1985;1:425-9.

[28] *Falk RJ, Jennette JC.* Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies with specificity for myeloperoxidase in patients with systemic vasculitis and idiopathic necrotizing and crescentic glomerulonephritis. *N Engl J Med*. 1988;318:1651-7.

[29] *Lee SS, Lawton JWM, Chak W.* Distinction between antinuclear antibody and P-ANCA. *J Clin Pathol*. 1991;44:962-3.

[30] *Niles JL, McCluskey RT, Ahmad MF, Arnaout MA.* Wegener's granulomatosis autoantigen is a novel neutrophil serine proteinase. *Blood*. 1989;74:1888-93.

[31] *Lüdemann J, Utecht B, Gross WL.* Anti-neutrophil cytoplasm antibodies in Wegener's granulomatosis recognize an elastinolytic enzyme. *J Exp Med*. 1990;171:357-62.

[32] *Chikazawa H, Nishiya K, Matsumori A, Hashimoto K.* Immunoglobulin isotypes of anti-myeloperoxidase and anti-lactoferrin antibodies in patients with collagen diseases. *J Clin Immunol*. 2000;20:279-86.

[33] *Nässberger L, Jonsson H, Sjöholm AG, Sturfelt G, Heubner A.* Circulating anti-elastase in systemic lupus erythematosus. *Lancet*. 1989;1:509.

[34] *Zhao MH, Jones SJ, Lockwood CM.* Bactericidal/permeability increasing protein (BPI) is an important antigen for anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies (ANCA) in vasculitis. *Clin Exp Immunol*. 1995;99:49-56.

[35] *Cooper T, Savige J, Nassis L, Paspaliaris B, Neeson P, Neil J, et al.* Clinical associations and characterisation of antineutrophil cytoplasmic antibodies directed against bactericidal/permeability increasing protein and azurocidin. *Rheumatol Int*. 2000;19:129-36.

[36] *Moodie FD, Leaker B, Cambridge G, Totty NF, Segal AW.* Alpha-enolase: a novel cytosolic autoantigen in ANCA positive vasculitis. *Kidney Int*. 1993;43:675-81.



Physiopathologie des vascularites associées aux ANCA

Alain CHEVAILLER

Laboratoire d'Immunologie et d'Allergologie, Pôle de Biologie, Hôpital Larrey, CHU, 49033 Angers Cedex 01

Abréviations

ANCA : antineutrophil cytoplasmic antibodies

GNNC : glomérulonéphrite nécrosante à croissants

IL : interleukine

MAI : maladie auto-immune

MPO : myéloperoxydase

NK : cellule Natural Killer

PAR2 : protease-activated receptor 2

PNN : polynucléaire neutrophile

PR3 : protéinase 3

TNF α : facteur de nécrose des tumeurs α

VAA : vascularite associée aux ANCA

1. Introduction

Depuis leur (re)découverte il y a 29 ans par Davies [1], les anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles ou ANCA (pour "antineutrophil cytoplasmic antibodies"), dont la première description

sans corrélation clinique remonte à 1959 par Calebresi et coll [2], ont bouleversé la prise en charge diagnostique et thérapeutique des patients atteints de vascularites primitives nécrosantes dans les suites de la publication de van der Woude et coll [3] qui les consacrait marqueurs diagnostiques et évolutifs de la maladie de Wegener.

En un peu plus de vingt ans, 4594 publications sont parues à leur sujet et quatorze congrès internationaux leur ont été consacrés, le dernier en juin 2009 à Copenhague où avait eu lieu le premier en mai 1988 [4].

Progressivement, et en parallèle des progrès accomplis pour une meilleure classification des vascularites [5] et de leur prise en charge thérapeutique [6], les chercheurs ont démêlé la pelote du fil de la pathogénie des vascularites des petits vaisseaux. La démonstration est désormais faite que ces maladies, caractérisées par l'inflammation de la

paroi vasculaire, sont bien des maladies auto-immunes (MAI) puisqu'elles remplissent les critères énoncés par Witebsky et Rose à la fin des années cinquante :

- il existe bien des autoanticorps spécifiques (ANCA anti-protéinase 3 [PR3] et anti-myéloperoxydase [MPO]) et des lymphocytes T spécifiques de ces mêmes autoantigènes [7] ;
- ces autoantigènes sont bien définis [8, 9, 10, 11] ;
- il existe des modèles animaux de vascularites à ANCA [12] ;
- dans ces modèles le transfert des effecteurs à un animal sain confère la maladie, et il existe deux cas humains rapportés de vascularite associée à des ANCA (VAA) anti-MPO par transfert maternofoetal [13, 14].

Comme pour toute MAI, l'expression clinique des vascularites associées aux ANCA dépend de l'interaction entre des facteurs génétiques, des facteurs environnementaux et un système immunitaire défaillant de l'individu concerné.

L'objet de cette revue est de présenter les arguments disponibles à ce jour pour construire le puzzle pathogénique des vascularites primitives en identifiant les zones d'ombre restantes. Elle traitera du rôle pathogène des ANCA, qui a été le plus étudié, de celui de l'immunité cellulaire désormais bien documenté, mais aussi de celui du complément qui commence à émerger, puis des facteurs environnementaux et génétiques.

2. Rôle pathogène des ANCA

De nombreux arguments, tant cliniques qu'expérimentaux, plaident pour une participation active des ANCA dans la survenue des VAA, à tout le moins dans les processus physiopathologiques qui conduisent aux lésions tissulaires, si ce n'est dans la rupture initiale de tolérance aux antigènes contenus dans les granules des polynucléaires neutrophiles (PNN) [15, 16].

2.1. Évidences cliniques

Contrairement à de nombreux autres autoanticorps, tels que les anticorps antinucléaire, anti-phospholipide, anti-mitochondrie, aucune étude épidémiologique n'a fait la preuve de la préexistence des ANCA sur les signes cliniques de VAA [17].

Toutefois l'analyse fine des données expérimentales semble en faveur d'une distinction entre les VAA anti-PR3, et principalement la maladie de Wegener, et celles associées aux ANCA anti-MPO, essentielle-

ment représentées par la micropolyangéite, et dans une moindre mesure le syndrome de Churg et Strauss [7, 18]. Sur le plan anatomo-clinique, les premières sont responsables d'une atteinte plurisystémique plus diversifiée, d'une détérioration plus rapide de la fonction rénale, d'une plus grande fréquence des rechutes et d'une atteinte inflammatoire granulomateuse spécifique des voies aériennes [18].

Pour la maladie de Wegener, dès la publication initiale [3] était mise en avant une forte corrélation entre le titre des autoanticorps et l'activité clinique de la maladie dans les formes généralisées, désormais mieux appréhendée par des scores internationalement reconnus, comme le score BVAS pour Birmingham vasculitis activity score [19]. Malgré tous les efforts de classification des patients, de standardisation de l'évaluation de l'activité clinique, la littérature sur le caractère prédictif de rechutes d'une réapparition ou d'une réascension du titre des ANCA reste conflictuelle [20, 21].

L'efficacité des traitements immunosuppresseurs et des échanges plasmatiques est un argument indirect en faveur du rôle pathogène des ANCA [22]. L'argument le plus convaincant reste cependant les deux cas de transmission maternofoetale de vascularite par transfert transplacentaire des ANCA maternels [13, 14].

2.2. Arguments *in vitro*

De nombreuses études *in vitro* plaident pour la participation des ANCA dans la pathogénie des vascularites, peut-être dans l'initiation du processus, à tout le moins dans la perpétuation et l'amplification des lésions tissulaires. Il est désormais bien établi que les ANCA sont capables de se lier à leur antigène cible (PR3 ou MPO) exprimé à la membrane des PNN après activation de ceux-ci par des facteurs pro-inflammatoires tels que le facteur de nécrose des tumeurs α (TNF α) ou les lipopolysaccharides. Il s'ensuit une dégranulation et une explosion oxydative pourvu que l'anticorps se fixe aussi par son fragment Fc à un récepteur correspondant [23]. Cette expression membranaire est minime à l'état basal et varie selon les individus [24] avec un plus grand pourcentage d'expression sur les PNN de patients atteints de maladie de Wegener [25] (cf. § 3-3).

2.3. Modèles expérimentaux

Pour mieux appréhender la pathogénie, et pour tester de nouvelles armes thérapeutiques, de nombreux modèles animaux ont été développés [26].

Le premier modèle opérationnel a été celui décrit

par Brouwer et coll [27]. Les lésions rénales de glomérulonéphrites nécrosantes à croissantes (GNCC) y étaient obtenues chez des rats BN, immunisés par de la MPO humaine, par perfusion de l'artère rénale avec le contenu des lysosomes des PNN.

En 2002, Xiao et coll ont développé un modèle murin de GNCC en immunisant des souris KO MPO^{-/-} par de la MPO murine : le transfert des anticorps anti-MPO obtenus chez ces souris, ou des spléno-cytes de la lignée B, à des congénères indemnes provoque une GNCC pouvant s'accompagner de vascularite d'autres petits vaisseaux. Dans ce modèle la déplétion en PNN par un anticorps monoclonal de rat anti-PNN murins a un effet protecteur, alors que l'injection de lipopolysaccharides a un effet aggravant par l'activation des PNN [28].

La critique faite à ce modèle est de n'être qu'un modèle de maladie aiguë [12], puisque consécutive à une seule injection de MPO. La même équipe a repris le protocole en irradiant à dose sublétales les souris KO MPO^{-/-} et en les reconstituant par une greffe de moelle osseuse de souris donneuses, soit MPO^{-/-}, soit MPO^{+/+}. Le transfert de cellules souches médullaires MPO^{+/+} n'influence pas la survenue de la GNCC alors que celui de cellules souches médullaires MPO^{-/-} la prévient, prouvant qu'il faut des cellules cibles exprimant la MPO pour que les ANCA anti-MPO soient pathogènes [29].

Un autre modèle a été développé chez le rat Wistar Kyoto par Little et coll [30]. L'immunisation par de la MPO humaine provoque au bout de huit jours une GNCC et une capillarite pulmonaire. Dans ce modèle les ANCA anti-MPO, induits par l'immunisation, provoquent une adhérence des PNN aux cellules endothéliales via CXCL1.

Suivant le schéma de Xiao, Pfister et coll [31] ont essayé sans succès de développer un modèle de vascularite associée aux ANCA anti-PR3. L'injection de PR3 murine à des souris double KO PR3^{-/-} élastase^{-/-}, si elle induit bien des anticorps anti-PR3, n'entraîne pas de GNCC après transfert de ces ANCA à une congénère indemne. Cette impossibilité à générer un modèle animal de vascularite associée aux PR3-ANCA plaide pour distinguer celle-ci de celles associées aux MPO-ANCA, s'ajoutant aux différences cliniques déjà listées (cf. § 2-1). La PR3 est beaucoup moins cationique que la MPO (pI respectivement de 7,7 pour la PR3 humaine et 6,7 pour la PR3 murine) et a donc moins d'opportunité d'interactions de charge que cette dernière.

3. Rôle de l'immunité cellulaire

Après l'explosion des travaux objectivant la respon-

sabilité du versant humoral de la réponse immunitaire suite à la découverte des ANCA, l'intérêt est revenu progressivement à son versant cellulaire [32].

3.1. Évidences cliniques

Deux des VAA se caractérisent sur le plan anatomopathologique par un granulome associé à l'inflammation de la paroi des petits vaisseaux : la maladie de Wegener et le syndrome de Churg et Strauss. Initialement cette atteinte granulomateuse est confinée le plus souvent à la sphère ORL, pouvant cependant parfois évoluer jusqu'à de sévères mutilations après destruction osseuse et cartilagineuse.

3.2. Rôle des lymphocytes T

La prédominance parmi les ANCA des sous-classes IgG1 et IgG4 est en faveur d'une réponse immunitaire à une stimulation (auto)antigénique chronique T dépendante [33] qui entraîne un déséquilibre des sous-populations lymphocytaires T : les lymphocytes T naïfs CD45RO⁻ sont diminués au profit d'une expansion des lymphocytes T effecteurs mémoire CD45RO⁺CCR7⁻ dont l'écotaxie est limitée aux seuls sites inflammatoires, à l'exclusion donc des organes lymphoïdes secondaires.

Cette sous-population de lymphocytes T effecteurs mémoire exprime CD2 qui lui permet d'adhérer aux cellules endothéliales via LFA3 [34]. Elle n'exprime pas le facteur Foxp3, et n'a donc pas de fonction régulatrice. Elle possède un phénotype proche des cellules natural killer (NK), exprimant le récepteur NKG2D et possédant dans ses granulations de la perforine et du granzyme B. Elle a donc des potentialités cytotoxiques qui pourraient participer aux lésions tissulaires des vascularites. En phase active des VAA on les retrouve préférentiellement dans les tissus atteints, tels que l'épithélium nasal ou l'endothélium rénal qui expriment fortement la molécule MICA, ligand de NKG2D [33].

Plusieurs explications possibles sont avancées pour expliquer cette activation persistante : le portage nasal chronique de *Staphylococcus aureus* (voir § 5-1), certains polymorphismes génétiques (voir § 6) et un défaut de la fonction suppressive des lymphocytes T régulateurs [33].

Dans la maladie de Wegener, on observe le plus souvent une lymphopénie T CD4⁺, qui n'est certainement pas univoque et qui peut comporter, selon les cohortes étudiées, une part thérapeutique [34]. Y est associée une augmentation compensatrice du pourcentage des lymphocytes T CD8⁺ qui pour

beaucoup n'expriment pas la molécule de costimulation CD28. Ceci pourrait expliquer l'expansion des lymphocytes T effecteurs mémoire peu dépendants de cette costimulation. Une corrélation entre la sévérité clinique et la faible expression de CD28 a été notée [34].

La caractérisation de sous-populations lymphocytaires T CD4+ en fonction de leur profil de sécrétion cytokinique et d'expression membranaire retrouve une prédominance Th1 dans les formes localisées de maladie de Wegener (IFN γ , CD26 et CCR5), à opposer à la prédominance Th2 dans les formes généralisées (IL-4 et CCR3) [33].

Pour expliquer la présence d'un granulome dans la maladie de Wegener, une hypothèse récente a été avancée [7]. Elle tient compte de la liaison démontrée de la PR3 à un récepteur membranaire des cellules dendritiques, PAR2 (protease-activated receptor 2). Sur des cellules dendritiques immatures, le clivage protéolytique de ce récepteur par son ligand, la PR3 relarguée par les PNN activés, aboutirait à la maturation des cellules dendritiques qui stimuleraient les lymphocytes T CD4+ PR3-spécifiques, orientant vers la voie Th1 et favorisant la formation d'un granulome [35]. La PR3 fonctionnerait comme une alarmine dans l'objectif de participer au processus de cicatrisation tissulaire dans ce modèle de récepteur sentinelle [36].

La fonction de la PR3 n'est cependant pas univoque, puisque il a été montré qu'elle pouvait interagir, avec des effets opposés, avec une interleukine (IL) pro-inflammatoire, l'IL-32, soit en la clivant et l'activant, soit en s'y liant seulement et l'inhibant. Sur la cellule dendritique, la liaison de la PR3 à PAR2 aboutit à la production d'interféron gamma par les lymphocytes T CD4+ qui augmente la production d'IL-32 par les cellules dendritiques. Dans un premier temps la PR3 favoriserait l'activation de cette dernière, puis, pour des raisons inexplicables, par simple liaison, agirait comme un mécanisme de rétrocontrôle négatif [35].

Plus récemment, une expansion de la sous-population de lymphocytes T CD4+ Th17 a été mise en évidence [37]. Son origine pourrait être à rapprocher d'un stimulus infectieux (voir § 5-1).

3.3. Rôle des polynucléaires

L'infiltration tissulaire par les PNN est la première étape d'une réponse immunitaire contre un pathogène. Ces cellules sont des éléments clés de la réponse immunitaire naturelle. Leur mission est de phagocyter les particules étrangères et les microorganismes avant même l'initiation de la réponse spécifique adaptative. Après avoir franchi l'endothé-

lium, le PNN dans les tissus peut orienter cette dernière par les cytokines qu'il libère dans le foyer inflammatoire, notamment en modulant la chimiotaxie des lymphocytes au foyer inflammatoire [38].

Pour accomplir leur rôle de cellules phagocytaires, les PNN sont équipés d'un arsenal de molécules contenues dans les différents granules, tels que des peptides bactéricides, des protéases et des radicaux libres d'oxygène [39] (tableau I). Certaines d'entre elles peuvent être des cibles autoantigéniques pour les ANCA si la tolérance immunitaire est rompue dans un contexte inflammatoire particulier. En condition basale, les constituants des granules sont isolés dans ces compartiments intracellulaires. Après avoir été activés et en réponse à une cascade de substances chimiotactiques, le PNN, quiescent dans le lit vasculaire, passe dans les tissus tout en libérant de manière séquentielle le contenu de ses différents granules, commençant par les vésicules sécrétoires lors de la diapédèse pour finir par les granules primaires dont le contenu de molécules toxiques ne doit être libéré qu'au sein du foyer inflammatoire où doit s'exercer leur pouvoir pathogène [38].

L'accumulation tissulaire des PNN dans les VAA est initiée par l'activation des PNN circulants quiescents par de faibles concentrations de cytokines libérées au foyer inflammatoire. Il en résulte une translocation des enzymes intragranulaires (PR3, MPO) à la membrane plasmique des PNN. Les cibles des ANCA sont alors accessibles à ces derniers, pourvu que la liaison se fasse à la fois par les fragments anticorps Fab, mais aussi par le Fc à différents récepteurs (Fc γ RIIa et Fc γ RIIb). L'activation provoque l'explosion oxydative et la dégranulation des PNN, conduisant aux lésions endothéliales de vascularite. Des études récentes par microarrays montrent que cette activation se traduit par l'activation de plus de 200 gènes, tels que ceux de l'annexine 3, de l'arginase I, des récepteurs de l'IL-1 et du LTB4 (leucotriène B4) dont le niveau d'expression est en corrélation avec l'activité clinique [40].

Parmi les cibles des ANCA, seule la PR3 est retrouvée dans les vésicules sécrétoires. La fusion de ces dernières avec la membrane plasmique explique une expression membranaire basale génétiquement déterminée selon un schéma bimodal [24]. Chez les patients atteints de maladie de Wegener, ce taux basal d'expression est plus élevé, et est en corrélation avec l'activité clinique de la maladie [25]. Plusieurs molécules peuvent jouer le rôle de récepteur membranaire de la PR3 : CD177 ou NB1, CD16 ou récepteur Fc γ RIII, l'intégrine CD18 ou la phospholipide scramblase I, impliquée dans les mouvements des phospholipides membranaires lors de l'apoptose, mais c'est surtout la molécule CD177 ou NB1 qui serait impliquée, sans compter des interactions avec

Tableau I - Antigènes cibles des ANCA des polynucléaires neutrophiles d'après [37]

Les molécules effectrices microbicides des PNN sont stockées dans différents types de granulations qui apparaissent séquentiellement au cours de la différenciation de ces cellules : granules primaires (ou azurophiles ou alpha), secondaires (ou neutrophiles ou bêta), granules de type gélatinase et vésicules sécrétoires. On les différencie par la composition de leurs constituants membranaires et matriciels. Les cibles des ANCA sont en caractères gras.

| granules primaires | granules secondaires | granules de type gélatinase | vésicules sécrétoires |
|---------------------------|-------------------------|-----------------------------|-------------------------------|
| membrane | membrane | membrane | membrane |
| CD63, CD68 | CD15, CD66, CD67 | fMLP-R, CR4 | CR1, fMLP-R |
| h-lamp2 | fMLP-R, CR4 | | CD16, CD10 |
| matrice | matrice | matrice | matrice |
| azurocidine | | | |
| BPI | | | |
| cathepsine G | | | |
| élastase | | | |
| glucuronidase | lactoferrine | | |
| lysozyme | lysozyme | lysozyme | |
| myéloperoxidase | | | |
| protéinase 3 | protéinase 3 | protéinase 3 | |
| glycérophosphatase | collagénase | acétyl-transférase | protéines plasmatiques |
| mannosidase | gélatinase | | |
| | histaminase | | |
| | sialidase | | |
| | vit B12-bp | | |

h-lamp-2 : human lysosomal membrane protein 2
BPI : bactericidal/permeability-increasing protein
fMLP-R : récepteur du formyl-méthionyl-leucyl-phénylalanine

CR1 : complement receptor 1
CR4 : complement receptor 4
VitB12-bp : vitamine B12 binding protein

des protéoglycanes contenant de l'héparane sulfate ou de la chondroïtine sulfate ou de simples interactions hydrophobes [41]. A l'inverse, il existe peu de données expérimentales pour le même type d'expression membranaire de la MPO [40].

L'apoptose des PNN est un mécanisme clé de contrôle de la réponse inflammatoire. Un défaut d'apoptose ou un défaut d'élimination des cellules apoptotiques peut aboutir à une rupture de tolérance par exposition prolongée d'antigènes du soi dans un contexte cytokinique inflammatoire. La PR3 membranaire fonctionnerait comme un signal inhibiteur de la phagocytose par les macrophages des PNN en début d'apoptose, potentialisant l'inflammation et donc l'auto-immunité [7, 40].

Rappelons que dans le modèle murin de vascularite par anti-MPO de Xiao [28], la déplétion en PNN prévient l'apparition des signes cliniques de vascula-

rites (cf. 2-3).

3.4. Rôle des cellules endothéliales

L'endothélium constitue la couche unicellulaire tapissant la paroi des vaisseaux. Les cellules endothéliales ont de nombreuses fonctions : contrôle du tonus vasomoteur, régulation du trafic des éléments figurés du sang, régulation de la coagulation, régulation de la réponse immunitaire. Leur phénotype varie selon leur état d'activation et leur localisation tissulaire. Ainsi les cellules endothéliales glomérulaires, qui sont baignées par 20 % du débit cardiaque, n'expriment pas comme les autres cellules endothéliales les molécules d'adhérence de la famille des sélectines, ce qui serait un mécanisme protecteur contre une activation induite des PNN. En effet les interactions entre polynucléaires et cellules endothéliales sont nombreuses. Perturbées par la présence des ANCA, ces interactions peuvent

conduire à des altérations de la paroi vasculaire qui font le lit des VAA. L'interaction PNN/cellule endothéliale se fait en quatre temps : attachement, roulement, arrêt et diapédèse. Les sélectines interviennent dans les deux premières étapes, les facteurs chimiotactiques et les intégrines de la famille $\beta 2$ dans la troisième. In vitro, des PNN activés par le $\text{TNF}\alpha$, en présence d'ANCA, entraînent par dégranulation une lyse des cellules endothéliales. Le blocage des intégrines par des anticorps monoclonaux (CD18, CD11b) qui empêche le contact entre les deux partenaires cellulaires prévient ces lésions. Il en va de même dans le modèle du rat Wistar Kyoto où l'utilisation d'anticorps anti-TNF prévient l'expression induite des molécules d'adhérence du PNN [42].

4. Rôle du complément

Jusqu'à il y a peu, il était habituel d'opposer les atteintes rénales des VAA à celles des maladies associées aux complexes immuns comme le lupus érythémateux systémique ou celles associées aux anticorps anti-membrane basale glomérulaire sur la base des dépôts d'immunoglobulines et de complément associés à ces deux dernières. Les VAA sont dites pauci-immunes eu égard à la rareté de ce type de dépôt. Cependant différentes études, revues in [16], portant soit sur des VAA, soit sur des maladies de Wegener, soit sur des syndromes de Churg et Strauss, retrouvent des dépôts de complément, principalement de C3, dans les biopsies rénales jusqu'à hauteur de 57,9 %. L'absence d'hypocomplémentémie sérique n'est pas un argument rédhibitoire contre une intervention du complément puisqu'elle n'est pas un indicateur sensible : elle n'est en effet pas systématiquement retrouvée dans des pathologies fortement associées avec l'activation du complément comme le purpura rhumatoïde. Dans les modèles d'activation in vitro par les ANCA des PNN sensibilisés par le TNF, parmi les produits libérés par ces derniers figurent des facteurs, non identifiés à ce jour, capables d'activer le complément, activation qui se traduit par la génération de C3a [43]. In vivo, dans le modèle murin de GNCC induite par des anticorps anti-MPO, la décomplémentation par le venin de cobra préalable à l'injection des anticorps anti-MPO ou au transfert des splénocytes immuns anti-MPO prévient l'atteinte rénale. Pour identifier la voie d'activation en cause, plusieurs types de souris receveuses ont été testés : alors que les souris KO C4-/- développent comme attendu cette atteinte rénale après immunisation, leurs congénères C5-/- ou B-/- ne le font pas, arguments en faveur de la responsabilité de la voie alterne [44], ce qu'a confirmé dans le même modèle l'effet protecteur d'un anticorps anti-C5 [45]. Le

PNN est capable de synthétiser et de stocker dans ces granules du C3, du facteur B, mais aussi de la properdine, seule molécule de régulation positive de la C3 convertase alterne. L'élastase et la kallikréine, aussi synthétisées par le PNN, présentent des homologues structurales avec le facteur D indispensable à l'activation du facteur B. Toute activation des PNN par les ANCA peut donc conduire à la libération de ces composants et la mise en place d'une boucle d'autoamplification de la voie alterne [16]. Cette activation du complément amplifierait les signes de vascularite par lésions des cellules endothéliales secondaires à la libération des radicaux libres d'oxygène et du contenu des granules des PNN activés par les ANCA.

5. Facteurs environnementaux

5.1. Infections

La variabilité saisonnière et la précession fréquente des poussées de vascularites par des épisodes infectieux et la plus grande fréquence d'un portage nasal chronique de *Staphylococcus aureus* chez les sujets souffrant de maladie de Wegener sont de bons arguments pour une participation infectieuse dans la pathogénie des VAA [12, 46]. Certaines toxines bactériennes telles que la toxine 1 du choc endotoxique (TSST-1) sont capable d'activer les lymphocytes T. Le risque relatif de rechute chez les sujets atteints de maladie de Wegener par ailleurs porteurs chroniques de *Staphylococcus aureus* arborant le TSST-1 a été évalué à 13,3 [47]. Des peptidoglycanes ou des superantigènes bactériens ont un effet modulateur sur les cellules dendritiques conduisant à une polarisation Th17 et à un relargage de chimiokines par les lymphocytes T CD4+ Th17 ainsi générés, et donc à un afflux de PNN au site inflammatoire, et de cytokines pro-inflammatoires (IL-1 β et $\text{TNF}\alpha$) capables d'entraîner la translocation membranaire de la PR3, cible potentielle d'activation de ces derniers par les ANCA [33].

On peut en rapprocher les données récentes sur la réactivité croisée entre une des cibles des ANCA, h-lamp-2 ou lysosomal human membrane associated protein-2 [48], et le modèle d'immunisation par le peptide complémentaire de la PR3 qui croise avec des composants de parois de nombreux germes ubiquistes [49].

La première observation supporte l'hypothèse du mimétisme moléculaire comme facteur de rupture de tolérance. Le même groupe qui avait précédemment identifié la h-lamp-2 comme nouvelle cible des ANCA [50] a démontré une reconnaissance croisée entre celle-ci et la protéine FimH1, protéine

fimbriaire des bactéries à Gram négatif. L'immunisation de rats par FimH-1 génère des ANCA anti-h-lamp-2 et déclenche une vascularite rénale.

Pendergraft et coll [49] ont observé l'existence chez les patients atteints de maladie de Wegener d'anticorps dirigés contre le peptide complémentaire de la PR3 (obtenu par lecture anti-sens du cDNA de la PR3). Ces derniers forment avec les ANCA anti-PR3 des complexes idiotypes/anti-idiotypes. Dans ce modèle l'immunisation de souris par ce peptide complémentaire non seulement induit des anticorps contre l'antigène immunisant, mais aussi des ANCA anti-PR3 et provoquent des lésions de vascularites. L'interrogation des bases de séquence protéique a permis de retrouver des peptides homologues à ce peptide complémentaire dans les parois ou membranes de nombreux pathogènes ubiquitaires, tels que *Staphylococcus aureus*, *Mycobacterium avium*, confortant ainsi l'hypothèse du lien entre infection et vascularite [47].

Le dernier argument en faveur d'une participation infectieuse à la pathogénie ou à tout le moins l'expression clinique des VAA est un argument thérapeutique. L'utilisation de triméthoprime-sulfaméthoxazole comme seul traitement des formes localisées de maladie de Wegener ou comme traitement de maintien de formes généralisées mises en rémission par le traitement immunosuppresseur conventionnel s'est révélée efficace [47].

Si les ANCA peuvent être, par les différents mécanismes infectieux sus-cités, à l'origine des VAA, il faut cependant garder présent à l'esprit que les ANCA peuvent aussi être de simples témoins d'un processus infectieux sans vascularite associée. Il s'agit le plus souvent d'infections chroniques, telles que des endocardites qui peuvent s'accompagner d'authentiques cANCA anti-PR3 qui disparaissent avec le traitement antibiotique adapté [51]. L'hypothèse est alors que la stimulation prolongée des PNN conduit à un relargage chronique du contenu des granules dans un contexte cytokinique pro-inflammatoire favorisant la rupture de tolérance. On explique ainsi la plus grande fréquence d'ANCA dirigés contre des cibles autres que la PR3 ou la MPO, tels que les ANCA anti-BPI retrouvés chez les patients souffrant de mucoviscidose aux poumons colonisés par le bacille pyocyanique ou celle des ANCA multispécifiques [39]. Ces ANCA pourraient dériver d'autoanticorps naturels et être différents de ceux associés aux vascularites [52]. Quoi qu'il en soit, le clinicien ne doit pas avoir un mode de raisonnement univoque qui lui fasse associer à tout coup ANCA et vascularite avec un traitement immunosuppresseur comme conséquence devant un tableau d'atteinte plurisystémique

qui peut être aussi celui d'une endocardite qui ne pourrait que pâtir d'une telle erreur diagnostique et thérapeutique [51].

5.2. Silice

Parmi les facteurs environnementaux, la silice est le plus étudié pour son implication dans la pathogénie des vascularites. Les liens entre silice et MAI ont été soupçonnés dès le début du vingtième siècle, puisque c'est en 1914 que Bramwell rapporte les premiers cas de sclérodermie chez des maçons écossais [53]. De nombreuses professions exposent, de manière ouverte ou non, à la silice. Le nombre des salariés exposés est estimé à 250 000 en France, 3 millions aux USA [54].

Après l'oxygène (49 %), le silicium (Si) est le deuxième élément de l'écorce terrestre (26 %) [54]. La silice est le dioxyde de Si, SiO₂. On la retrouve dans la nature sous forme de silicates, de silice amorphe telle que la terre de diatomées et sous forme cristalline : quartz, cristobalite et tridymite. Ce sont ces formes cristallines qui sont les plus toxiques [55]. Néanmoins les plantes cultivées (riz, canne à sucre, graminées) accumulent de la silice dans leurs tissus et constituent des sources d'exposition parfois méconnues [54].

Nous avons été les premiers à rapporter une association [56, 57], secondairement confirmée par d'autres auteurs [58], entre exposition à la silice et vascularite à ANCA, plus volontiers de spécificité anti-myéloperoxydase. Depuis, des enquêtes épidémiologiques ont confirmé le lien entre exposition à la silice et GNNC à ANCA avec des pourcentages de sujets exposés allant de 22 à 46 % [59, 60, 61], différence qui peut à la fois s'expliquer par la plus ou moins grande difficulté à mettre en évidence une exposition méconnue, mais aussi par des variations climatiques qui influencent l'exposition aux formes atmosphériques [62].

Les hypothèses physiopathologiques liant exposition à la silice et MAI s'appuient sur celles, connues, de la survenue de la silicose pulmonaire. La plaque tour-nante en est le macrophage alvéolaire qui phagocyte les particules de silice inhalées. L'activation qui en résulte libère de nombreux médiateurs (radicaux libres d'oxygène, enzymes lysosomiales, cytokines pro-inflammatoires et profibrosantes) responsables de la survenue d'un granulome inflammatoire puis d'une fibrose cicatricielle. La silice, dont le potentiel apoptotique est établi, pourrait expliquer la lymphopénie que nous avons observée chez des sujets exposés [63]. L'atteinte électorale de lymphocytes T régulateurs, conjuguée à la libération d'autoantigènes consécutive à l'inflammation déclenchée par l'activation des macrophages expliquerait la rupture de tolérance [64].

5.3. Médicaments

De même qu'il existe d'authentiques lupus iatrogènes, très rapidement ont été identifiées des vascularites médicamenteuses associées à des ANCA, imputables à des drogues identiques ou appartenant aux mêmes classes pharmacologiques [65]. Les médicaments les plus souvent incriminés sont reportés dans le tableau II. Le suivi des patients qui reçoivent ce type de médicaments doit être particulièrement orienté vers la détection précoce de signes cliniques de vascularites qui sont identiques à ceux des vascularites spontanées. Le traitement repose sur l'arrêt de la prise médicamenteuse qui le plus souvent suffit au retour à la normale. Ce n'est que dans les quelques cas avec atteinte organique et menace fonctionnelle ou vitale qu'on peut être amené à utiliser le même traitement immunosuppresseur que pour les vascularites primitives. Globalement le pronostic des vascularites iatrogènes est meilleur avec une absence de rechutes qui est la règle après arrêt de l'exposition et une moindre mortalité comparativement aux vascularites primitives [66].

Le propylthio-uracile est le plus souvent cité, avec une fréquence de positivité des ANCA pour 22,6 % des sujets traités et 6,5 % de sujets présentant des signes cliniques alors que les ANCA ne sont pas retrouvés dans l'histoire naturelle de la maladie de Basedow [66]. Pour la minocycline donnée au long cours pour le traitement de l'acné, 7 % des patients possèdent des ANCA, souvent associés à des anticorps antinucléaires. Les ANCA des vascularites iatrogènes sont exceptionnellement dirigés contre la PR3 et sont plus volontiers de type pANCA anti-MPO ou multispécifiques dirigés notamment contre l'élastase et/ou la lactoferrine, avec des titres élevés [65].

En terme de physiopathologie les médicaments incriminés ou leurs métabolites provoquent la

rupture de tolérance en se complexant aux enzymes des granules des PNN, en leur servant de substrat ou en provoquant leur expression membranaire après induction de l'apoptose des PNN [64, 66]. Pour les vascularites associées aux biothérapies anti-TNF, l'hypothèse d'une infection bactérienne dans un contexte de réponse immunitaire réorientée vers la voie Th2 serait une possibilité [66].

6. Facteurs génétiques

Les VAA sont des maladies rares, avec des incidences annuelles par million d'habitants évaluées respectivement à 9 pour la maladie de Wegener, 3 pour la micropolyangéite et 1 pour le syndrome de Churg et Strauss.

Pour ce qui est des associations avec les allèles du complexe majeur d'histocompatibilité, l'allèle HLA-DPB1*0401 est préférentiellement associé à la maladie de Wegener alors que pour le syndrome de Churg et Strauss c'est HLA-DRB1*07 qui est retrouvé, ce qui pourrait faire de ces allèles, ou de gènes étroitement associés, des facteurs favorisant l'inflammation à composante granulomateuse [67].

Deux autres gènes polymorphes présentent une association avec la maladie de Wegener : RING-1 (ring finger protein-1) et RXRB (retinoid X receptor) [32, 33].

Plus intéressants sont les gènes dont le polymorphisme pourrait expliquer la pérennité de l'activation des lymphocytes T : PTPN22 (protein tyrosine kinase non-receptor 22) qui abaisse le seuil de réactivité des lymphocytes T et B, CTLA-4 et PD-1 qui codent pour des signaux inhibiteurs des lymphocytes T dont l'expression membranaire accrue pourrait expliquer une résistance à l'apoptose [67]. Le polymorphisme de PTPN22 se retrouve aussi dans d'autres maladies auto-immunes (lupus érythémateux systémique, polyarthrite rhumatoïde), ce qui

Tableau II - Médicaments associés avec les vascularites à ANCA iatrogènes d'après [66]

| Antibiotiques | Anti-thyroïdiens | Biothérapies anti-TNF α | Psychotropes | Divers |
|---------------|--------------------|--------------------------------|--------------|-----------------|
| Céphotaxime | Benzylthio-uracile | Adalimumab | Clozapine | Allopurinol |
| Minocycline | Carbimazole | Etanercept | Thioridazine | D-Pénicillamine |
| | Méthimazole | Infliximab | | Hydralazine |
| | Propylthio-uracile | | | Levamisole |
| | | | | Phénytoïne |
| | | | | Sulfasalazine |

est en faveur de facteurs prédisposant communs aux maladies auto-immunes [7].

7. Conclusion

Les VAA sont donc vraisemblablement un groupe hétérogène d'entités cliniques aux pathogénies variées : le granulome ne se voit que dans la maladie de Wegener et le syndrome de Churg et Strauss alors que la micropolyangéite est une vascularite qui contrairement aux deux autres n'a pas de formes localisées autres que rénales, est moins agressive et plus volontiers séronégative [68]. La maladie de Wegener, qui débute par une forme localisée à forte composante cellulaire pour se généraliser après l'apparition des ANCA [33] est plus volontiers associée aux cANCA anti-PR3 alors que la micropolyangéite l'est plus aux pANCA anti-MPO, avec plus fréquemment une atteinte rénale et neurologique que les formes de micropolyangéite ANCA négatives. La difficulté à obtenir des modèles de VAA avec les cANCA anti-PR3 conforte cette dichotomie. Malgré les progrès réalisés ces dernières années, des interrogations subsistent. Pourquoi seules certaines vascularites, en fonction de la taille des vaisseaux et peut-être du phénotype de leurs cellules endothéliales, s'accompagnent-elles d'ANCA ? Pourquoi le granulome n'est-il pas toujours présent ? Ce sont les objectifs des travaux de recherche des prochaines années.

Références

- [1] *Davies DJ, Moran JE, Niall JF, Ryan GB.* Segmental necrotizing glomerulonephritis with anti-neutrophil antibody: possible arbovirus aetiology? *Br Med J.* 1982;285,606.
- [2] *Calabresi P, Edwards EA, Schilling RF.* Fluorescent antiglobulin studies in leukopenic and related disorders. *J Clin Invest.* 1959;38:2091-100.
- [3] *van der Woude FJ, Rasmussen N, Lobatto S, Wiik A, Permin H, van Es LA, et al.* Antibodies against neutrophils and monocytes: tool for diagnosis and marker of disease activity in Wegener's granulomatosis. *Lancet.* 1985;1,425-9.
- [4] *Segelmark M, Westman K, Selga D, Sturfelt G, Nived O, Hellmark T, et al.* ANCA, So : what's new? *APMIS Suppl.* 2009;127:1.
- [5] *Jennette JC, Falk RJ, Andrassy K, Bacon PA, Churg J, Gross WL, et al.* Nomenclature of systemic vasculitides. Proposal of an international consensus conference. *Arthritis Rheum.* 1994;37,187-92.
- [6] *Hiemstra TF, Jayne D.* Newer therapies for vasculitis. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2009;23:379-89.
- [7] *Csernok E, Moosig F, Gross WL.* Pathways to ANCA production: from differentiation of dendritic cells by proteinase 3 to B lymphocyte maturation in Wegener's granuloma. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2008;34:300-6.
- [8] *Wieslander J, Wiik A.* ANCA antigens: myeloperoxidase. In: van Venrooij WJ, Maini RN, editors. *Manual of Biological Markers of Diseases.* Dordrecht: Kluwer Academic Publishers; 1994. B7.2 p. 1-9.
- [9] *Wieslander J, Wiik A.* ANCA antigens: proteinase 3. In: van Venrooij WJ, Maini RN, editors. *Manual of Biological Markers of Diseases.* Dordrecht: Kluwer Academic Publishers; 1994. B7.1 p. 1-9.
- [10] *Gross WL, Csernok E, Szymkowiak CH.* Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies with specificity for proteinase 3. In: Peter JB, Shoenfeld Y, editors. *Autoantibodies.* Amsterdam: Elsevier; 1996. p. 61-7.
- [11] *Kallenberg CGM.* Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies with specificity for myeloperoxidase. In: Shoenfeld Y, Gershwin ME, Meroni PL, editors. *Autoantibodies.* Amsterdam: Elsevier; 2007. p. 95-103.
- [12] *van der Veen BS, Heeringa P.* ANCA-small vessel vasculitides: what have we (not yet) learned from animal models? *APMIS Suppl.* 2009;127:21-6.
- [13] *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.* 2004;93:398-401.
- [14] *Schlieben DJ, Korbet SM, Kimura RE, Schwartz MM, Lewis EJ.* Pulmonary-renal syndrome in a newborn with placental transmission of ANCA. *Am J Kidney Dis.* 2005;45:758-61.
- [15] *Lionaki S, Jennette JC, Falk RJ.* Anti-neutrophil cytoplasmic (ANCA) and anti-glomerular basement membrane (GBM) autoantibodies in necrotizing and crescentic glomerulonephritis. *Semin Immunopathol.* 2007;29:459-74.
- [16] *Van Timmeren MM, Chen M, Heeringa P.* Review article: Pathogenic role of complement activation in anti-neutrophil cytoplasmic auto-antibody-associated vasculitis. *Nephrology (Carlton).* 2009;14:16-25.
- [17] *Mahr AD.* Epidemiological features of Wegener's granulomatosis and microscopic polyangiitis: two diseases or one 'anti-neutrophil cytoplasm

antibodies-associated vasculitis' entity? *APMIS Suppl.* 2009;127:41-7.

[18] *Kallenberg CG.* Pathogenesis of PR3-ANCA associated vasculitis. *J Autoimmun.* 2008;30:29-36.

[19] *Luqmani RA, Exley AR, Kitas GD, Bacon PA.* Disease assessment and management of the vasculitides. *Baillieres Clin Rheumatol.* 1997;11:423-46.

[20] *Tervaert JW, Huitema MG, Hene RJ, Sluiter WJ, The TH, van der Hem GK, et al.* Prevention of relapses in Wegener's granulomatosis by treatment based on anti-neutrophil cytoplasmic antibodies titre. *Lancet.* 1990;336:709-11.

[21] *Kerr GS, Fleisher TA, Hallahan CW, Leavitt RY, Fauci AS, Hoffman GS.* Limited prognostic value of changes in antineutrophil cytoplasmic antibody titer in patients with Wegener's granulomatosis. *Arthritis Rheum.* 1993;36:365-71.

[22] *Csernok E.* Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies and pathogenesis of small vessel vasculitides. *Autoimmun Rev.* 2003;2:158-64.

[23] *Falk RJ, Terrell RS, Charles LA, Jennette JC.* Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies induce neutrophils to degranulate and produce oxygen radicals in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1990;87:4115-9.

[24] *Halbwachs-Mecarelli L, Bessou G, Lesavre P, Lopez S, Witko-Sarsat V.* Bimodal distribution of proteinase 3 (PR3) surface expression reflects a constitutive heterogeneity in the polymorphonuclear neutrophil pool. *FEBS Lett.* 1995;374:29-33.

[25] *Witko-Sarsat V, Lesavre P, Lopez S, Bessou G, Hieblot C, Prum B, et al.* A large subset of neutrophils expressing membrane proteinase 3 is a risk factor for vasculitis and rheumatoid arthritis. *J Am Soc Nephrol.* 1999;10:1224-33.

[26] *Katz U, Gilburd B, Shoenfeld Y.* Animal models of vasculitides. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2008;35:11-8.

[27] *Brouwer E, Huitema MG, Klok PA, de Weerd H, Tervaert JW, Weening JJ, et al.* Antimyeloperoxidase-associated proliferative glomerulonephritis: an animal model. *J Exp Med.* 1993;177:905-14.

[28] *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.* 2002;110:955-63.

[29] *Schreiber A, Xiao H, Falk RJ, Jennette JC.* Bone marrow-derived cells are sufficient and necessary targets to mediate glomerulonephritis and vasculitis induced by anti-myeloperoxidase antibodies. *J Am*

Soc Nephrol. 2006;17:3355-64.

[30] *Little MA, Smyth CL, Yadav R, Ambrose L, Cook HT, Nourshargh S, et al.* Antineutrophil cytoplasmic antibodies directed against myeloperoxidase augment leukocyte-microvascular interactions in vivo. *Blood.* 2005;106:2050-8.

[31] *Pfister H, Ollert M, Fröhlich LF, Quintanilla-Martinez L, Colby TV, Specks U, et al.* Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies against the murine homolog of proteinase 3 (Wegener autoantigen) are pathogenic in vivo. *Blood.* 2004;104:1411-8.

[32] *Lamprecht P, Wiczorek S, Epplen JT, Ambrosch P, Kallenberg CGM.* Granuloma formation in ANCA-associated vasculitides. *APMIS Suppl.* 2009;127:32-6.

[33] *Abdulahad WH, Stegeman CA, Kallenberg CGM.* Review article: The role of CD4+ T cells in ANCA-associated systemic vasculitis. *Nephrology (Carlton).* 2009;14:26-32.

[34] *Berden AE, Kallenberg CGM, Savage COS, Yard BA, Abdulahad WH, de Heer E, et al.* Cellular immunity in Wegener's granulomatosis: characterizing T lymphocytes. *Arthritis Rheum.* 2009;60:1578-87.

[35] *Csernok E, Holle JU, Gross WL.* Proteinase 3, protease-activated receptor-2 and interleukin-32: linking innate and autoimmunity in Wegener's granulomatosis. *Clin Exp Rheumatol.* 2008;26(3 Suppl 49):S112-7.

[36] *Plotz PH.* The autoantibody repertoire: searching for order. *Nat Rev Immunol.* 2003;3:73-8.

[37] *Abdulahad WH, Stegeman CA, Limburg FC, Kallenberg CGM.* Skewed distribution of Th17 lymphocytes in patients with Wegener's granulomatosis in remission. *Arthritis Rheum.* 2008;58:2196-205.

[38] *Witko-Sarsat V, Rieu P, Descamps-Latscha B, Lesavre P, Halbwachs-Mecarelli L.* Neutrophils: molecules, functions and pathophysiological aspects. *Lab Invest.* 2000;80:617-53.

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

[40] *Witko-Sarsat V, Daniel S, Noël LH, Mouthon L.* Neutrophils and B lymphocytes in ANCA-associated vasculitis. *APMIS Suppl.* 2009;127:27-31.

[41] *Hu N, Westra J, Kallenberg CGM.* Membrane-bound proteinase 3 and its receptors: relevance for the pathogenesis of Wegener's Granulomatosis. *Autoimmun Rev.* 2009;8:510-4.

- [42] **Pankhurst T, Savage COS, Little MA.** Review article: Leukocyte-endothelial dysregulation in systemic small vessel vasculitis. *Nephrology* (Carlton). 2009;14:3-10.
- [43] **Karpman D, Kahn R.** The contact/kinin and complement systems in vasculitis. *APMIS Suppl.* 2009;127:48-54.
- [44] **Xiao H, Schreiber A, Heeringa P, Falk RJ, Jennette JC.** Alternative complement pathway in the pathogenesis of disease mediated by anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies. *Am J Pathol.* 2007;170:52-64.
- [45] **Huugen D, van Esch A, Xiao H, Peutz-Kootstra CJ, Buurman WA, Tervaert JW, et al.** Inhibition of complement factor C5 protects against anti-myeloperoxidase antibody-mediated glomerulonephritis in mice. *Kidney Int.* 2007;71:646-54.
- [46] **Stegeman CA, Tervaert JW, Sluiter WJ, Manson WL, de Jong PE, Kallenberg CG.** Association of chronic nasal carriage of *Staphylococcus aureus* and higher relapse rates in Wegener granulomatosis. *Ann Intern Med.* 1994;120:12-7.
- [47] **Kallenberg CGM, Tadema H.** Vasculitis and infections: contribution to the issue of autoimmunity reviews devoted to "autoimmunity and infection". *Autoimmun Rev.* 2008;8:29-32.
- [48] **Kain R, Exner M, Brandes R, Ziehermayr R, Cunningham D, Alderson CA, et al.** Molecular mimicry in pauci-immune focal necrotizing glomerulonephritis. *Nat Med.* 2008;14:1088-96.
- [49] **Pendergraft WF 3rd, Preston GA, Shah RR, Tropsha A, Carter CW Jr, Jennette JC, et al.** Autoimmunity is triggered by cPR-3(105-201), a protein complementary to human autoantigen proteinase-3. *Nat Med.* 2004;10:72-9.
- [50] **Kain R, Matsui K, Exner M, Binder S, Schaffner G, Sommer EM, et al.** A novel class of autoantigens of antineutrophil cytoplasmic antibodies in necrotizing and crescentic glomerulonephritis: the lysosomal membrane glycoprotein h-lamp-2 in neutrophil granules and a related membrane protein in glomerular endothelial cells. *J Exp Med.* 1995;181:585-97.
- [51] **Subra JF, Michelet C, Laporte J, Carrere F, Reboul P, Cartier F, et al.** The presence of cytoplasmic antineutrophil cytoplasmic antibodies (c-ANCA) in the course of subacute bacterial endocarditis with glomerular involvement, coincidence or association? *Clin Nephrol.* 1998;49:15-8.
- [52] **Guilpain P, Servettaz A, Batteux F, Guillevin L, Mouthon L.** Natural and disease associated anti-myeloperoxidase (MPO) autoantibodies. *Autoimmunity Rev.* 2008;7:421-5.
- [53] **Bramwell B.** Diffuse scleroderma: its frequency; its occurrence in stone masons; its treatment by fibrolysis in elevations of temperature due to fibrolysis injections. *Edinburgh Med J.* 1914:387.
- [54] **Subra JF.** Silice et auto-immunité. *Rev Fr Lab.* 2004;361:23-5.
- [55] **D'Cruz D.** Autoimmune diseases associated with drugs, chemicals and environmental factors. *Toxicol Lett.* 2000;112-113:421-32.
- [56] **Chevallier A, Subra JF, Renier G.** Anti-myeloperoxidase antibodies and silicosis with renal involvement: new association or coincidental event? *Am J Kidney Dis.* 1991;28:213.
- [57] **Chevallier A, Carrère F, Renier G, Hurez D, Subra JF, Reboul P, et al.** Silicon nephropathy and myeloperoxidase antibodies. *Ann Rheum Dis.* 1994;53:781-2.
- [58] **Gregorini G, Tira P, Frizza J, D'Haese PC, Elseviers MM, Nuyts G, et al.** ANCA-associated diseases and silica exposure. *Clin Rev Allergy Immunol.* 1997;15:21-40.
- [59] **Hogan SL, Satterly KK, Dooley MA, Nachman PH, Jennette JC, Falk RJ.** Silica exposure in anti-neutrophil cytoplasmic autoantibody-associated glomerulonephritis and lupus nephritis. *J Am Soc Nephrol.* 2001;12:134-42.
- [60] **Nuyts GD, Van Vlem E, De Vos A, Daelemans RA, Rorive G, Elseviers MM, et al.** Wegener granulomatosis is associated to exposure to silicon compounds: a case-control study. *Nephrol Dial Transplant.* 1995;10:1162-5.
- [61] **Beaudreuil S, Lasfargues G, Lauériere L, El Ghoul Z, Fourquet F, Longuet C, et al.** Occupational exposure in ANCA-positive patients: a case-control study. *Kidney Int.* 2005;67:1961-6.
- [62] **de Lind van Wijngaarden RAF, van Rijn L, Hagen EC, Watts RA, Gregorini G, Tervaert JW, et al.** Hypotheses on the etiology of antineutrophil cytoplasmic autoantibody associated vasculitis: the cause is hidden, but the result is known. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2008;3:237-52.
- [63] **Subra JF, Renier G, Reboul P, Tollis F, Boivinnet R, Schwartz P, et al.** Lymphopenia in occupational pulmonary silicosis with or without autoimmune disease. *Clin Exp Immunol.* 2001;126:540-4.
- [64] **Chevallier A.** Auto-immunité et xénobiotiques. *Rev Fr Lab.* 2006;384 bis:23-30.
- [65] **Wiik A.** Drug-induced vasculitis. *Curr Opin Rheumatol.* 2008;20:35-9.

[66] Gao Y, Zhao MH. Drug-induced anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *Nephrology (Carlton)*. 2009;14:33-41.

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

[68] Holle JU, Gross WL. ANCA-associated vasculitides: pathogenetic aspects and current evidence-based therapy. *J Autoimmun*. 2009;32:163-71.

Détection des ANCA par immunofluorescence indirecte



Alain CHEVAILLER²

Laboratoire d'Immunologie et d'Allergologie, Pôle de Biologie, Hôpital Larrey, CHU, 49033 Angers Cedex 01

Abréviations

AAN : anticorps antinucléaire
ANCA : antineutrophil cytoplasmic antibodies
BSA : sérum-albumine bovine
IFI : immunofluorescence indirecte
MPO : myéloperoxydase
PNN : polynucléaire neutrophile
PBS : tampon phosphate salin
PR3 : protéinase 3
TNF α : facteur de nécrose des tumeurs α
VAA : vascularite associée aux ANCA

1. Introduction

Les anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles (ou ANCA en anglais pour "antineutrophil cytoplasmic antibodies") sont des autoanticorps dirigés contre des constituants antigéniques présents principalement dans les granules primaires, azurophiles (encore appelés alpha) des polynucléaires neutrophiles (PNN) (tableau I) et dans les lysosomes des monocytes. Ce sont de bons marqueurs sérologiques des vascularites systémiques nécrosantes, notamment de la granulomatose de Wegener [1] et de la micropolyangéite quand les cibles autoantigéniques sont la protéinase 3 (PR3) ou la myéloperoxydase (MPO) [2]. La positivité des ANCA et l'identification de leur cible est une aide précieuse au diagnostic des vascularites [3], dont la classification reste clinicopathologique, même si le dépistage des ANCA a permis de l'améliorer comme en témoigne la conférence de consensus de Chapel Hill en 1994 [4]. Leur apport au diagnostic des vascularites systémiques justifie un intérêt que l'on peut mesurer au nombre croissant de publications (4594 publications en vingt et un ans depuis 1988) et au rythme soutenu des congrès internationaux qu'ils

suscitent depuis le premier à Copenhague en 1988, le quatorzième y ayant bouclé la boucle en juin 2009 [5].

Depuis leur (re)découverte il y a 29 ans [6], l'éventail des maladies qui leur sont associées ainsi que le spectre des spécificités autoantigéniques qu'ils reconnaissent se sont considérablement élargis [7]. La recherche des ANCA est le plus souvent effectuée pour affirmer ou exclure le diagnostic de vascularite nécrosante primitive, mais elle peut également permettre le suivi sous traitement puisque dès la publication initiale [1], au moins pour la maladie de Wegener, on montrait que leur titre est le plus souvent en corrélation avec l'activité clinique.

Comme pour tous les autoanticorps, l'examen de première intention est l'immunofluorescence indirecte (IFI). Les ANCA, tout comme les anticorps antinucléaires (AAN), sont une famille d'autoanticorps dirigés contre des cibles variées, responsables d'aspects différents dont rapidement les premières publications ont montré l'absence de corrélation stricte avec les cibles autoantigéniques reconnues, et, partant, les moindres valeurs prédictives quant aux maladies associées [8]. L'identification des cibles a mis à disposition les molécules naturelles ou recombinantes qui ont été évaluées pour la commercialisation de trousse diagnostiques [9, 10, 11]. La deuxième étape obligatoire est donc la caractérisation de la cible reconnue par un test en phase solide, que ce soit un test ELISA, un immunodot, un test fluorométrique ou par multiplexage. La pertinence clinique du résultat nécessite l'association de l'IFI et d'un test en phase solide, ce qui a été acté en 1999 par un groupe international d'experts [12]. Associant IFI et ELISA, la recherche des ANCA a une sensibilité de 73 % pour la maladie de Wegener et de 67 % pour la micropolyangéite avec une spécificité de

Tableau I - Antigènes cibles des ANCA des polynucléaires neutrophiles d'après [37]

Les molécules effectrices microbicides des PNN sont stockées dans différents types de granulations qui apparaissent séquentiellement au cours de la différenciation de ces cellules : granules primaires (ou azurophiles ou alpha), secondaires (ou neutrophiles ou bêta), granules de type gélatinase et vésicules sécrétoires. On les différencie par la composition de leurs constituants membranaires et matriciels. Les cibles des ANCA sont en caractères gras.

| granules primaires | granules secondaires | granules de type gélatinase | vésicules sécrétoires |
|---------------------------|-------------------------|-----------------------------|-------------------------------|
| membrane | membrane | membrane | membrane |
| CD63, CD68 | CD15, CD66, CD67 | fMLP-R, CR4 | CR1, fMLP-R |
| h-lamp2 | fMLP-R, CR4 | | CD16, CD10 |
| matrice | matrice | matrice | matrice |
| azurocidine | | | |
| BPI | | | |
| cathepsine G | | | |
| élastase | | | |
| glucuronidase | lactoferrine | | |
| lysozyme | lysozyme | lysozyme | |
| myéloperoxidase | | | |
| protéinase 3 | protéinase 3 | protéinase 3 | |
| glycérophosphatase | collagénase | acétyl-transférase | protéines plasmatiques |
| mannosidase | gélatinase | | |
| | histaminase | | |
| | sialidase | | |
| | vit B12-bp | | |

h-lamp-2 : human lysosomal membrane protein 2
BPI : bactericidal/permeability-increasing protein
fMLP-R : récepteur du formyl-méthionyl-leucyl-phénylalanine

CR1 : complement receptor 1
CR4 : complement receptor 4
VitB12-bp : vitamine B12 binding protein

99 % [11]. L'indication de la recherche des ANCA par cette double stratégie initialement restreinte aux seules vascularites primitives des petits vaisseaux a été élargie en 2003 par le même groupe d'experts aux autres pathologies inflammatoires [13].

2. La technique d'immunofluorescence indirecte

En pratique l'examen peut se faire sur du sérum ou du plasma [14]. A ce jour, l'IFI reste le "gold standard" pour la recherche des ANCA. La technique de référence est celle décrite au premier congrès international de Copenhague en 1988 [15].

Le substrat est représenté par des PNN de sujets sains de groupe O fixés à l'éthanol (5 minutes à +4°C avec de l'éthanol à 96-99 %). Cependant, compte tenu des difficultés de lecture, notamment liées à la présence d'AAN, d'autres fixateurs peuvent être utili-

sés, principalement le formol, mais aussi le méthanol. La plupart des lames commerciales sont univoques pour le fixateur, mais certains industriels proposent des assemblages de différents types de PNN selon le mode de fixation dans le même puits, ce qui diminue d'autant les séries à réaliser.

L'utilisation de PNN de sujets atteints de leucémie myéloïde chronique pour la confection de frottis en grande quantité pour des lames "maison" retrouve des aspects concordants, avec une moindre gêne par les AAN [16].

Selon les recommandations du consensus international sur les ANCA de 1999 [12], le sérum est à diluer au 1/40 dans du tampon phosphate salin (PBS) additionné de sérum-albumine bovine (BSA) à 1 % pour diminuer le bruit de fond. En pratique, la dilution du 1/20 est aussi le plus souvent réalisée, et acceptée lors du dernier congrès de Copenhague en juin 2009 [17].

L'antisérum marqué par le fluorochrome est un anti-immunoglobulines humaines qui peut être soit polyvalent, reconnaissant les trois isotypes majeurs d'immunoglobulines (anti-IgG, -IgA, -IgM), soit monospécifique anti-IgG. Une contre-coloration par le bleu Evans est optionnelle.

Les deux incubations sont de trente à quarante-cinq minutes, suivies de trois lavages de cinq minutes en PBS-BSA (tampon phosphate salin supplémenté en sérum-albumine bovine).

Les préparations sont montées entre lame et lamelle, en glycérine tamponnée.

Chaque série doit inclure un témoin négatif (sérum humain normal), et au moins deux, voire trois témoins positifs qui représentent les aspects d'intérêt clinique décrits ci-dessous (cANCA, pANCA, voire aANCA).

La lecture se fait au microscope à fluorescence équipé en épi-illumination, au grossissement 400, avec ou sans immersion.

En parallèle, une recherche d'AAN sur cellules HEp-2 devra toujours être effectuée.

3. Les aspects d'IFI des ANCA

Trois aspects d'IFI sur PNN fixés par l'éthanol avec une relevance clinique ont été décrits. Ils s'expliquent par la localisation des cibles [18].

Le premier historiquement décrit [1, 6] est appelé cANCA (figure 1a). Il correspond à une fluorescence cytoplasmique granulaire diffuse le plus souvent avec 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. Cet aspect typique de cANCA est le plus souvent produit par des ANCA qui reconnaissent la PR3. On peut observer parfois un aspect cytoplasmique homogène dans toute la cellule ("plat"), le plus souvent dirigé contre une cible inconnue (ni PR3, ni MPO).

Le deuxième aspect a été appelé périnucléaire ou pANCA (figure 1b). Il apparaît comme un marquage intense de la périphérie des lobes nucléaires avec un centre presque négatif, conférant une image de "chou-fleur". Fait important, ce marquage est inho-

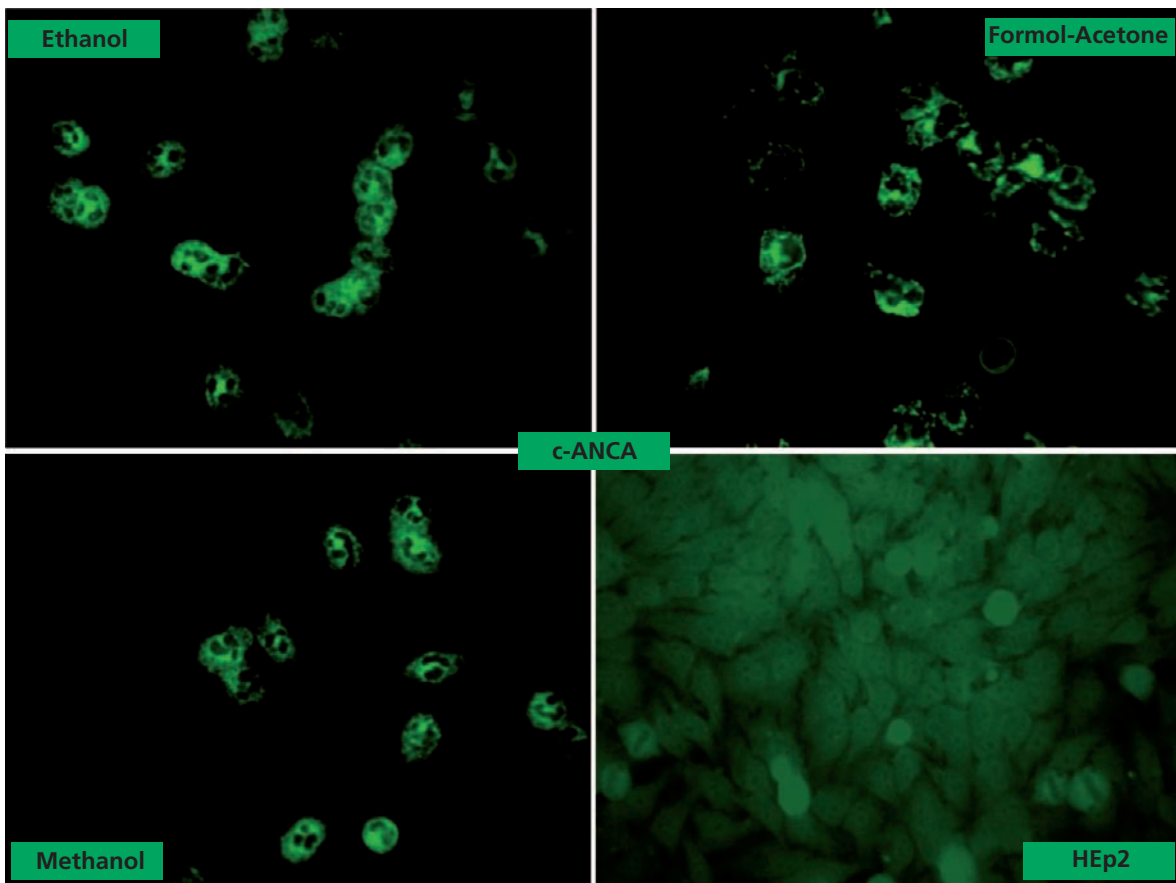


Figure 1a

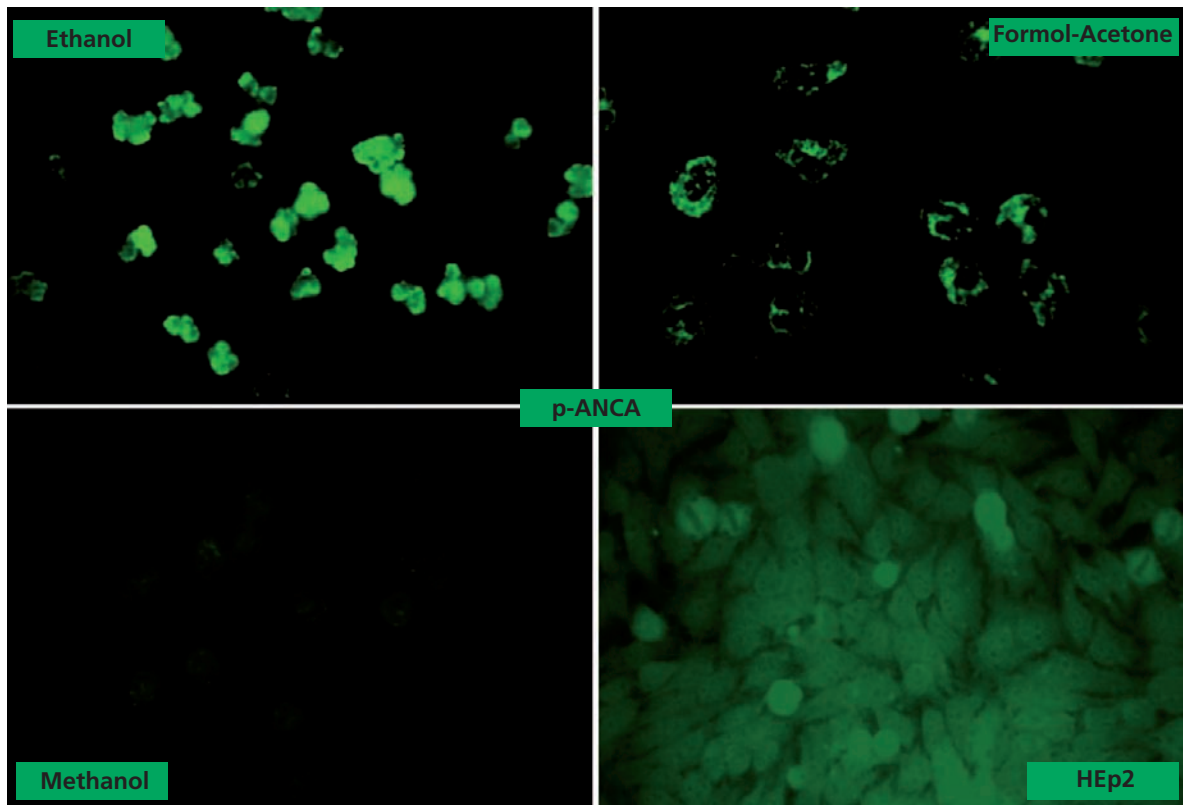


Figure 1b

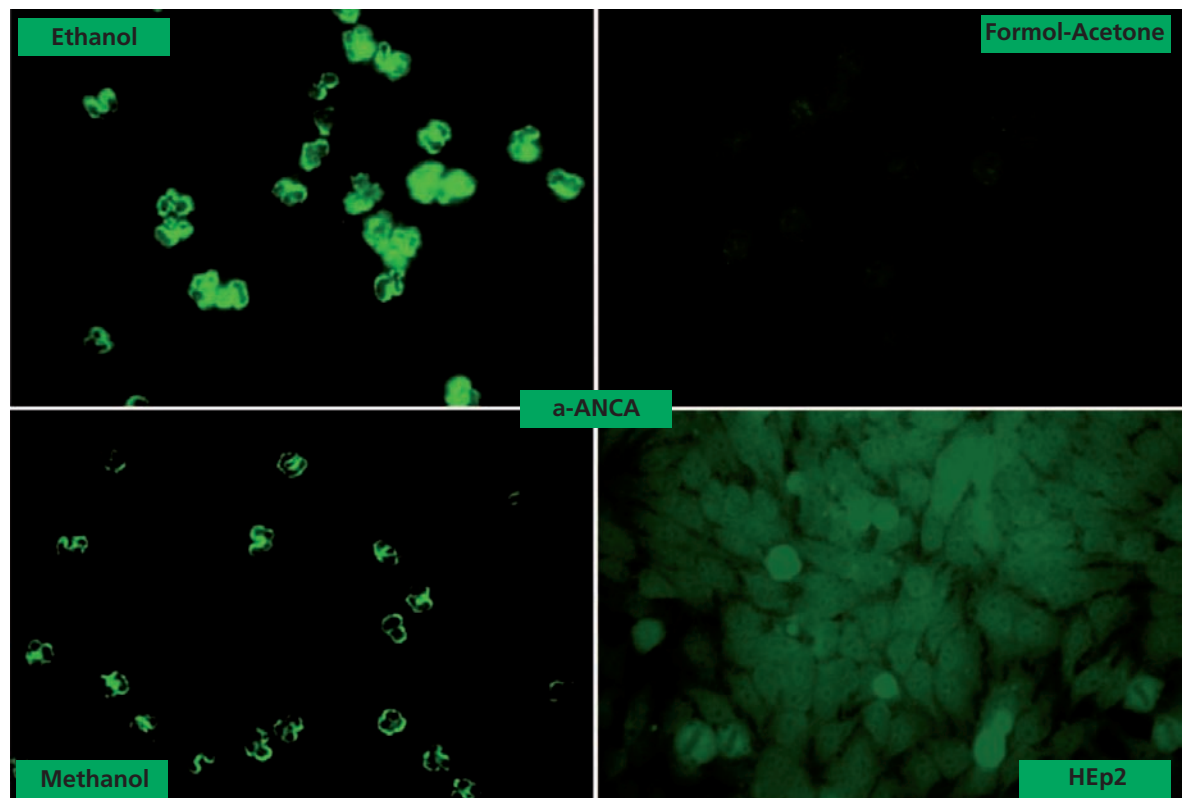


Figure 1c

Figure 1 - Les trois aspects de fluorescence des ANCA

Les lames commerciales (Euroimmun) comportent dans chaque puits quatre dépôts distincts : des PNN fixés par l'éthanol, des PNN fixés par le formol, des PNN fixés par le méthanol et des cellules HEp-2. Le sérum du patient est dilué au 1/20. La lecture se fait au microscope à fluorescence équipé en épi-illumination au grossissement x400 : 1a : sérum cANCA ; 1b : sérum pANCA ; 1c : sérum aANCA ; voir texte pour la description.

mogène d'une cellule à l'autre, avec plus ou moins de fines ponctuations cytoplasmiques associées, qu'il n'est pas toujours aisé de distinguer en raison de l'intensité du marquage périnucléaire. Sur PNN fixés par le formol, l'aspect est identique à celui observé avec les cANCA, à savoir grossièrement granulaire diffus à renforcement inter-lobaire. Sur PNN fixés par le méthanol, il n'y a habituellement pas de marquage. La variabilité de la fluorescence périnucléaire s'explique par le caractère artéfactuel du marquage [19]. Les antigènes reconnus, et plus spécialement la MPO, sont des molécules cationiques qui, lors de la fixation par l'éthanol, sont capables de diffuser dans le cytosol et d'interagir avec des molécules anioniques de la membrane nucléaire. La perméabilisation de la membrane des granules est un événement inégal d'une cellule à l'autre, responsable de l'hétérogénéité de la fluorescence, alors qu'un authentique antigène nucléaire est uniformément réparti quelle que soit la cellule, et est donc responsable d'une fluorescence d'intensité nucléaire égale sur toutes les cellules. Distinguer un pANCA d'un AAN est la principale difficulté de l'IFI sur PNN fixés par l'éthanol, d'autant plus que ces autoanticorps sont fréquemment associés [7]. Plusieurs recours existent. En premier, la présence de lymphocytes contaminants dans la préparation de PNN peut faciliter la distinction : les AAN marquent les lymphocytes, ce qui n'est pas le cas des ANCA [20]. L'aspect hétérogène du marquage périnucléaire selon les cellules est le second argument. Le troisième, qui est l'argument majeur, est la commutation vers un aspect cANCA sur PNN fixés par le formol [21], fixateur qui a en outre l'avantage d'éteindre une majorité des marquages dus aux AAN [16].

Le troisième aspect, décrit en dernier et qui fait le plus débat, est appelé atypique (aANCA), et combine des caractéristiques des deux premiers (figure 1c). Il associe un marquage du pourtour des lobes nucléaires, avec des pleins et des déliés évoquant le dessin au pinceau d'une calligraphie japonaise, et un très faible marquage cytoplasmique finement ponctué. Selon la nature de la cible, qui n'est pas toujours identifiable, loin s'en faut, le résultat du marquage sur des PNN fixés par le formol peut être négatif ou de type cANCA, à savoir grossièrement granulaire diffus à renforcement inter-lobaire. Sur des PNN fixés par le méthanol, l'aspect est identique, voire encore plus intense, à celui donné sur PNN fixés par l'éthanol.

Le tableau II résume les résultats de l'IFI en fonction des fixateurs utilisés. L'utilisation de ces différents types de substrat permet de distinguer les trois types d'ANCA et de différencier les pANCA des AAN. Les cANCA donne un aspect cytoplasmique quel que soit le type de fixateur utilisé. On ne peut affirmer l'exis-

tence d'un pANCA qu'après avoir observé une commutation de l'aspect périnucléaire sur PNN fixés par l'éthanol vers l'aspect cytoplasmique sur PNN fixés par le formol. Enfin les aANCA ont un aspect identique sur PNN fixés par l'éthanol et le méthanol.

Pour une interprétation correcte de toute recherche d'ANCA, le résultat de la recherche spécifique d'AAN sur cellules HEp-2 doit être connu.

Tableau II - Aspect de fluorescence des ANCA selon le type de fixateur utilisé, d'après [2]
Voir texte pour légende

| | éthanol | formol | méthanol |
|--------------|---------------|--------------------------|---------------|
| cANCA | cytoplasmique | cytoplasmique | cytoplasmique |
| pANCA | périnucléaire | cytoplasmique | négatif |
| aANCA | atypique | cytoplasmique ou négatif | atypique |

4. Difficultés d'interprétation

Nous avons déjà évoqué la présence gênante d'AAN qui est la difficulté majeure.

Les sérums hypergammaglobulinémiques sont parfois responsables d'un faible marquage cytoplasmique homogène des PNN.

D'autres autoanticorps sont susceptibles de rendre malaisée la lecture de la fluorescence [18]. Les anticorps anti-ribosome (figure 2) sont susceptibles de donner une fluorescence cytoplasmique atypique des PNN, mais aussi des lymphocytes contaminants. Les anticorps anti-muscle lisse de spécificité anti-actine (figure 3) donnent aussi un marquage de type cANCA, l'éthanol dépolymérisant l'actine F qui se condense en amas. Pour ces deux autoanticorps, l'aspect typique de la fluorescence sur cellules HEp-2, puis sur quadruple substrat de rat (foie, rein, estomac et pancréas) redressera le diagnostic. Enfin, difficulté qui n'en n'est pas une, mais plutôt une particularité à connaître : les anticorps anti-centromère donnent sur PNN fixés par l'éthanol principalement, plus faiblement pour ceux fixés par le méthanol, mais pas sur ceux fixés par le formol, plusieurs dizaines de spots brillants accrochés à la membrane des lobes nucléaires. Une telle image doit inviter à leur recherche spécifique sur cellules HEp-2 s'ils ne sont pas déjà connus (figure 4).

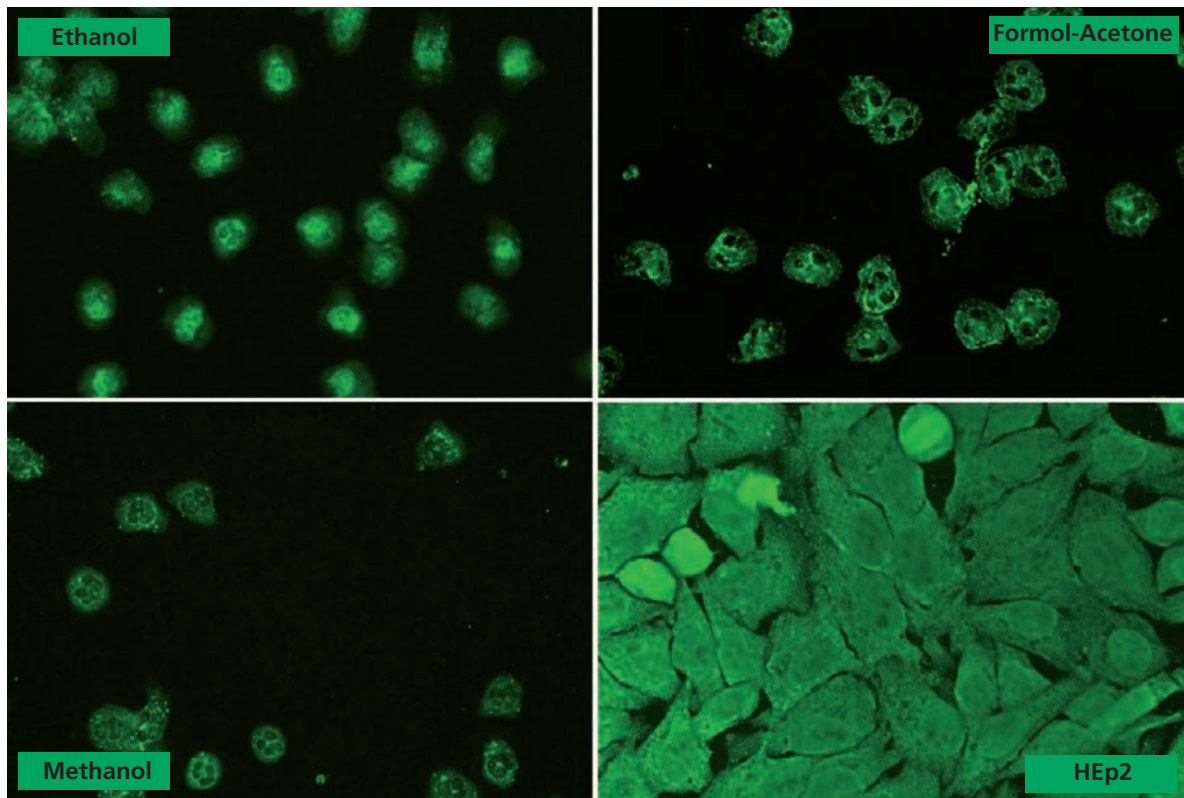


Figure 2 - Anticorps anti-ribosome : pièges diagnostiques pour la lecture de l'IFI

Les lames commerciales (Euroimmun) comportent dans chaque puits quatre dépôts distincts : des PNN fixés par l'éthanol, des PNN fixés par le formol, des PNN fixés par le méthanol et des cellules HEp-2. Le sérum contenant des anticorps anti-ribosome est dilué au 1/20. La lecture se fait au microscope à fluorescence équipé en épi-illumination au grossissement x400 : voir texte pour la description.

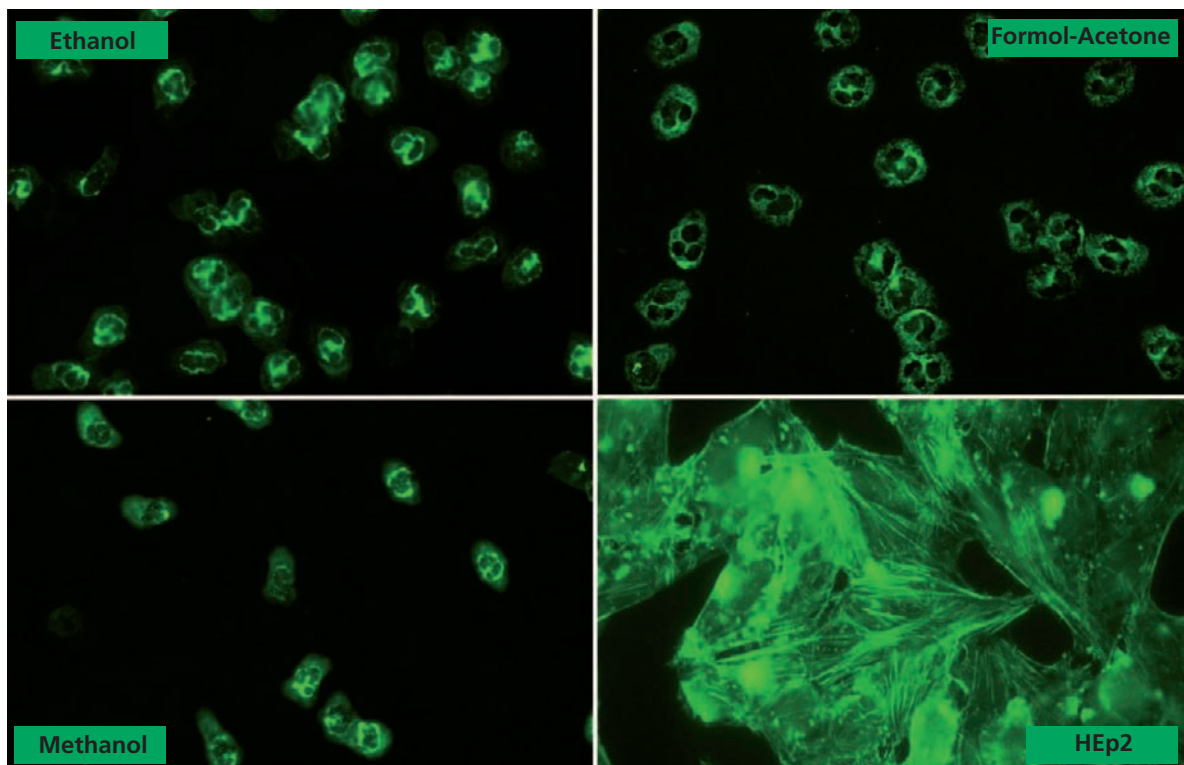


Figure 3 - Anticorps anti-actine : pièges diagnostiques pour la lecture de l'IFI

Les lames commerciales (Euroimmun) comportent dans chaque puits quatre dépôts distincts : des PNN fixés par l'éthanol, des PNN fixés par le formol, des PNN fixés par le méthanol et des cellules HEp-2. Le sérum contenant des anticorps anti-actine est dilué au 1/20. La lecture se fait au microscope à fluorescence équipé en épi-illumination au grossissement x400 : voir texte pour la description.

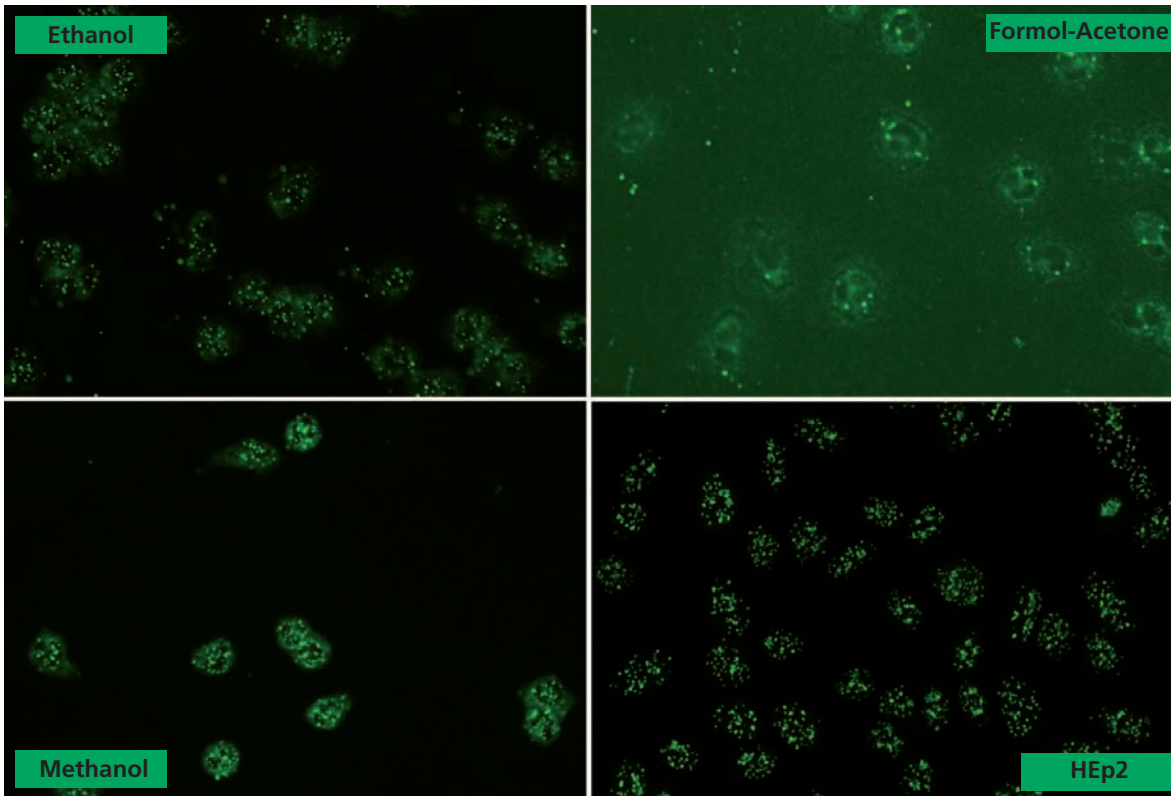


Figure 4 - Anticorps anti-centromère : pièges diagnostiques pour la lecture de l'IFI

Les lames commerciales (Euroimmun) comportent dans chaque puits quatre dépôts distincts : des PNN fixés par l'éthanol, des PNN fixés par le formol, des PNN fixés par le méthanol et des cellules HEp-2. Le sérum contenant des anticorps anti-centromère est dilué au 1/20. La lecture se fait au microscope à fluorescence équipé en épi-illumination au grossissement x400 : voir texte pour la description.

5. Titrage et seuil de positivité

Le titrage se réalise sur des PNN fixés par l'éthanol. Nous commençons notre dépistage au 1/20e et rendons un résultat positif dès cette dilution, car toujours accompagné du résultat de la recherche de spécificité : les cliniciens sont avertis de la différence de valeur prédictive entre un cANCA au 1/20e sans spécificité identifiable, de peu de valeur diagnostique, et un cANCA au 1/640e de spécificité anti-PR3 fortement évocateur de maladie de Wegener.

Pour les pANCA on observe souvent pour la dernière dilution positive une commutation de l'aspect péri-nucléaire vers un aspect cytoplasmique de cANCA. Ceci s'explique par l'existence d'un contingent de plus forte affinité d'anticorps anti-MPO dirigés uniquement contre des épitopes masqués suite à la redistribution artéfactuelle de l'antigène, et uniquement accessibles dans les granules [22].

6. Stratégie de dépistage

Deux études récentes [23, 24] ont cherché à évaluer la pertinence de l'utilisation première lors du dépistage des tests spécifiques d'antigène suivie d'une confirmation par IFI. La taille restreinte des cohortes étudiées, et leur restriction aux seules vas-

cularites primitives ne permettent pas de conclure [17]. Pour un gain économique minime, cette stratégie ne se montre pas plus performante que celle recommandée actuellement.

7. Liens entre les aspects de fluorescence et les cibles antigéniques

Comme les AAN, les ANCA sont une famille d'autoanticorps hétérogènes, reconnaissant différentes cibles. Le seul aspect de fluorescence a une moindre valeur prédictive que l'identification de la cible autoantigénique pour le diagnostic des maladies associées. Il en va de la maladie de Wegener comme de la sclérodémie généralisée par exemple : c'est l'identification comme cible de la PR3 d'un cANCA de titre élevé qui concourt au diagnostic en association avec les arguments cliniques, anatomopathologiques et d'imagerie, tout comme celle de la topoisomérase I comme cible d'un AAN d'aspect nucléolaire. La figure 5 résume les corrélations entre aspects et cibles, qui sont décrites par ailleurs (voir article de Sylvain Dubucquoi et Sophie Desplat-Jégo).

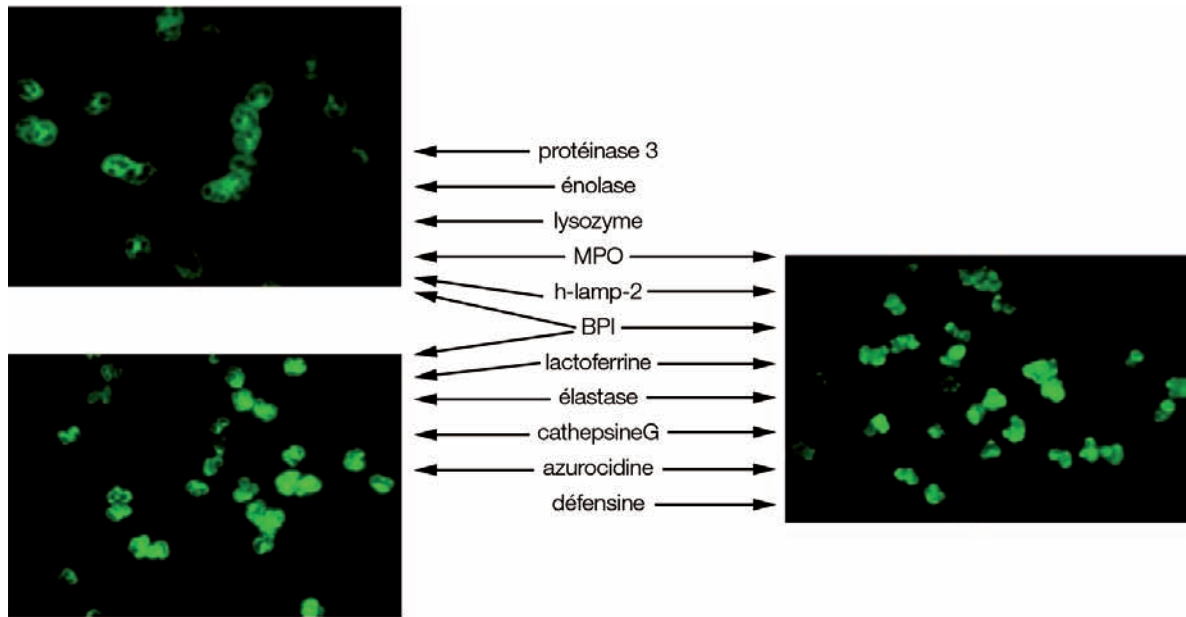


Figure 5 - Répartition des cibles des ANCA selon l'aspect de fluorescence, d'après [34]
L'aspect de fluorescence est rapporté aux cibles identifiées, l'épaisseur de la flèche indiquant le degré de corrélation

8. Intérêt pour le suivi

A peu près 90 % des patients avec une maladie de Wegener généralisée possèdent des cANCA de spécificité anti-PR3 [25, 26]. Au moins 80 % des patients avec une micropolyangéite ont des pANCA de spécificité anti-MPO [19]. Ainsi donc découvrir des cANCA anti-PR3 de titre élevé est prédictif d'une vascularite touchant plus volontiers les sphères ORL et pulmonaire avec une propension aux rechutes alors que l'observation de pANCA anti-MPO de titre élevé oriente plus vers une vascularite à tropisme rénal et au moindre potentiel de rechute [27].

Tous les tests diagnostiques pour rechercher les ANCA (IFI, ELISA) ont été développés et calibrés en utilisant des sérums de patients en phase active de leur vascularite [27]. On doit garder en mémoire ce postulat pour aborder la question épineuse de la valeur prédictive des résultats de ces tests pour le suivi des patients traités. La réponse polyclonale de la phase active initiale est dirigée contre l'ensemble des épitopes de la PR3 et de la MPO, dont seul quelques-uns ont vraisemblablement un pouvoir pathogène, c'est-à-dire que les ANCA qui sont dirigés contre eux participent à la pathogénie ou, à tout le moins, à l'entretien des lésions inflammatoires [27]. Sous l'effet du traitement immunosuppresseur, de polyclonale, si elle ne disparaît pas, la réponse devient oligoclonale, restreinte à quelques épitopes, qui peuvent être non pathogènes [28]. Ceci permet d'expliquer la persistance d'ANCA chez des patients en rémission clinique complète, ainsi que les résultats discordants observés dans les tests en phase solide selon l'accessibilité des épitopes des différentes préparations antigéniques et leurs conditions

de couplage. Il n'est donc pas licite de proposer de réintroduire ou de majorer le traitement immunosuppresseur sur la seule base de la réapparition ou la réascension du titre des ANCA, ce que seules quelques équipes ont osé [29], sans faire le consensus dans la communauté médicale [30].

Il n'y a pas de consensus pour l'utilisation des ANCA dans le suivi des patients. Néanmoins certaines règles de bonnes pratiques sont à respecter. Compte tenu de la multiplicité des tests commerciaux disponibles, le clinicien devra si possible avoir recours au même laboratoire pour garantir l'homogénéité dans le suivi des résultats. Il doit être informé que pour l'IFI, compte tenu de tous les paramètres susceptibles d'influencer la lecture (lot de lames, lot de conjugué, usure de la lampe, observateur), seule une différence d'au moins trois dilutions a une valeur significative, alors que pour les tests Elisa la comparaison des résultats à deux dates différentes, ne peut se faire qu'à condition de repasser le sérum antérieur dans la série du jour [2]. Quoi qu'il en soit, l'interprétation du résultat de l'IFI ne peut se faire qu'avec le résultat de l'identification de la cible (MPO et PR3), et n'a de pertinence que replacée dans le contexte clinique du patient pour qui l'examen a été prescrit.

9. ANCA en urgence

Certaines vascularites associées aux ANCA (voir article spécifique dans ce numéro) peuvent mettre en jeu le pronostic vital ou fonctionnel, qu'elles se traduisent par une glomérulonéphrite rapidement progressive ou un syndrome pneumorénal. Dans un tel

contexte [31] la décision de mettre en route un traitement immunosuppresseur lourd et non dénué d'effets secondaires, mais seul à même de préserver le pronostic, ne peut attendre la confirmation diagnostique apportée par l'examen anatomopathologique de l'organe biopsié, le rein le plus souvent. La recherche des ANCA, habituellement exécutée par séries programmées, doit alors se faire en urgence dans la journée, en associant IFI et test en phase solide, immunodot, fluorométrie ou multiplexage, mieux adaptés à une demande ponctuelle que l'ELISA en microplaque [32].

10. Conclusion

En un peu plus d'une vingtaine d'années, la recherche des ANCA s'est imposée comme un des succès de l'immunologie médicale, bouleversant la prise en charge des vascularites [33, 34]. L'IFI reste l'examen de première intention, mais doit nécessairement être complétée, en cas de résultat positif, par la recherche spécifique, par test en phase solide, des deux spécificités d'intérêt clinique, la PR3 et la MPO. L'interprétation pertinente des résultats ne peut se faire que par une étroite collaboration entre le clinicien et le biologiste [2].

Références

- [1] van der Woude FJ, Rasmussen N, Lobatto S, Wiik A, Permin H, van Es LA, et al. Antibodies against neutrophils and monocytes: tool for diagnosis and marker of disease activity in Wegener's granulomatosis. *Lancet*. 1985;1: 425-9.
- [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] Mohan N, Kerr GS. Diagnosis of vasculitis. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2001;15:203-23.
- [4] Jennette JC, Falk RJ, Andrassy K, Bacon PA, Churg J, Gross WL, et al. Nomenclature of systemic vasculitides. Proposal of an international consensus conference. *Arthritis Rheum*. 1994;37: 187-92.
- [5] Segelmark M, Westman K, Selga D, Sturfelt G, Nived O, Hellmark T, et al. ANCA, So: what's new? *APMIS Suppl*. 2009;127:1.
- [6] Davies DJ, Moran JE, Niall JF, Ryan GB. Segmental necrotizing glomerulonephritis with anti-neutrophil antibody : possible arbovirus aetiology? *Br Med J*. 1982;285:606.
- [7] Savige J, Pollock W, Trevisin M. What do anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) tell us? *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2005;19:263-76.
- [8] Chevailler A, Renier G, Subra JF. Anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles et maladies associées. *Ann Med Interne*. 1991;142:530-42.
- [9] Hagen EC, Andrassy K, Csernok E, Daha MR, Gaskin G, Gross W, et al. The value of indirect immunofluorescence and solid phase techniques for ANCA detection. A report on the first phase of an international cooperative study on the standardization of ANCA assays. *J Immunol Methods*. 1993;159 :1-16.
- [10] Hagen EC, Andrassy K, Csernok E, Daha MR, Gaskin G, Gross W, et al. Development of solid phase assays for the detection of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA). A report on the second phase of an international cooperative study on the standardization of ANCA assays. *J Immunol Methods*. 1996;196:1-15.
- [11] Hagen EC, Daha MR, Hermans J, Andrassy K, Csernok E, Gaskin G, et al. The diagnostic value of standardized assays for anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) in idiopathic systemic vasculitis. *Kidney int*. 1998;53:743-53.
- [12] Savige J, Gillis D, Benson E, Davies D, Esnault V, Falk RJ, et al. International consensus statement on testing and reporting of antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA). *Am J Clin Pathol*. 1999;111:507-13.
- [13] Savige J, Dimech W, Fritzler M, Goeken J, Hagen EC, Jennette JC, et al. Addendum to the international consensus statement on testing and reporting of antineutrophil cytoplasmic antibodies. Quality control guidelines, comments, and recommendations for testing in other autoimmune diseases. *Am J Clin Pathol*. 2003;120:312-8.
- [14] Lee AS, Finkielman JD, Peikert T, Hummel AM, Viss MA, Jacob GL, et al. Agreement of anti-neutrophil cytoplasmic antibody measurements obtained from serum and plasma. *Clin Exp Immunol*. 2006;146:15-20.
- [15] Wiik A. Delineation of a standard procedure for indirect immunofluorescence detection of ANCA. *Acta Pathol Microbiol Scand*. 1989;97(Suppl 6):12-3.
- [16] Chevailler A, Noel LH, Renier G, Gardembas-Pain M, Subra JF, Nusbaum P, et al. Determination of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) specificity by immunofluorescence on chronic myelocytic leukemia cells. *J Immunol Methods*. 1992;147:101-9.
- [17] 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.

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

[19] *Falk RJ, Jennette JC.* Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies with specificity for myeloperoxidase in patients with systemic vasculitis and idiopathic necrotizing and crescentic glomerulonephritis. *N Engl J Med.* 1988;318:1651-7.

[20] *Wiik A, Rasmussen N, Wieslander J.* Methods to detect autoantibodies to neutrophilic granulocytes. In: van Venrooij WJ, Maini RN, editors. *Manual of biological markers of diseases.* Dordrecht: Kluwer Academic Publishers; 1994. A.9, p. 1-14.

[21] *Wieslander J, Wiik A.* ANCA antigens: myeloperoxidase. In: van Venrooij WJ, Maini RN, editors. *Manual of biological markers of diseases.* Dordrecht: Kluwer Academic Publishers; 1994. B7.2, p. 1-9.

[22] *Segelmark M, Baslund B, Wieslander J.* Some patients with antimyeloperoxidase autoantibodies have a cANCA pattern. *Clin Exp Immunol.* 1994;96:458-65.

[23] *Russell KA, Wiegert E, Schroeder DR, Homburger HA, Specks U.* Detection of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies under actual clinical testing conditions. *Clin Immunol.* 2002;103:196-203.

[24] *Vermeersch P, Vervaeke S, Blockmans D, van Hoovels L, Mariën G, Vanmaele H, et al.* Determination of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in small vessel vasculitis: comparative analysis of different strategies. *Clin Chim Acta.* 2008;397:77-81.

[25] *Specks U, Wheatley CL, McDonald TJ, Rohrbach MS, DeRemee RA.* Anticytoplasmic autoantibodies in the diagnosis and follow-up of Wegener's granulomatosis. *Mayo Clin Proc.* 1989;64:28-36.

[26] *Niles JL, McCluskey RT, Ahmad MF, Arnaout MA.* Wegener's granulomatosis autoantigen is a novel neutrophil serine proteinase. *Blood.* 1989;74:1888-93.

[27] *Savige J, Trevisin M, Hayman M, Pollock W.* Most proteinase3- and myeloperoxidase-antineutrophil cytoplasmic antibodies enzyme-linked immunosorbent assays perform less well in treated small-vessel vasculitis than in active disease. *APMIS Suppl.* 2009;127:60-2.

[28] *Specks U.* Epitope-specific anti-neutrophil cytoplasmic antibodies: do they matter? Can they be detected? *APMIS Suppl.* 2009;127:63-6.

[29] *Cohen-Tervaert JW, Huitema MG, Hene RJ, Sluiter WJ, The TH, van der Hem GK, et al.* Prevention of relapses in Wegener's granulomatosis by treatment based on anti-neutrophil cytoplasmic antibodies titre. *Lancet.* 1990;336:709-11.

[30] *Kerr GS, Fleisher TA, Hallahan CW, Leavitt RY, Fauci AS, Hoffman GS.* Limited prognostic value of changes in antineutrophil cytoplasmic antibody titer in patients with Wegener's granulomatosis. *Arthritis Rheum.* 1993;36:365-71.

[31] *Sinclair D, Stevens JM.* Role of antineutrophil cytoplasmic antibodies and glomerular basement membrane antibodies in the diagnosis and monitoring of systemic vasculitides. *Ann Clin Biochem.* 2007;44:432-42.

[32] *Luxton G, Langham R.* ANCA serology in the diagnosis and management of ANCA-associated renal vasculitis. *Nephrology.* 2008;13(Suppl 2):S17-S23.

[33] *Stegeman CA, Kallenberg CGM.* Clinical aspects of primary vasculitis. *Springer Semin Immunopathol.* 2001;23:231-51.

[34] *Segelmark M, Westman K, Wieslander J.* How and why should we detect ANCA? *Clin Exp Rheumatol.* 2000;18:629-35.



ANCA et vascularites

Maxime BOYER, Alain CHEVALLER

Laboratoire d'Immunologie et d'Allergologie, Pôle de Biologie, Hôpital Larrey, CHU, 49033 Angers Cedex 01

Abréviations

ACR : American College of Rheumatology
ANCA : antineutrophil cytoplasmic antibodies
AVID : ANCA-associated vasculitis index damage
BVAS : Birmingham vasculitis activity score

CSS : syndrome de Churg et Strauss
GFEV : Groupe Français d'Etude des Vascularites
GNECPI : glomérulonéphrite extracapillaire paucimmune
HSP : purpura rhumatoïde ou maladie de Schönlein-Henoch

MBG : membrane basale glomérulaire
 MPO : myéloperoxydase
 PAN : périartérite noueuse
 PNN : polynucléaire neutrophile
 PR3 : protéinase 3
 SAPL : syndrome des anti-phospholipides
 VAA : vascularite associée aux ANCA
 VDI : vascular damage index
 VH : vascularite d'hypersensibilité
 WG : maladie de Wegener

Les vascularites primitives sont un groupe de maladies systémiques caractérisées par l'inflammation de la paroi des vaisseaux. La conséquence pathologique en est une nécrose fibrinoïde, d'où le terme de vascularite nécrosante. Elles peuvent être localisées à un seul organe, avec une gravité clinique variable, mais sont le plus souvent généralisées et beaucoup plus agressives, pouvant mettre en jeu le pronostic fonctionnel de certains organes (rein par exemple), voire le pronostic vital. Les lésions localisées de la paroi artérielle peuvent conduire à la constitution d'anévrismes, avec risque de rupture, alors que les lésions circonférentielles peuvent provoquer des occlusions avec ischémie d'aval [1]. La découverte des ANCA (antineutrophil cytoplasmic antibodies) a suscité un regain d'intérêt pour ces maladies qui a abouti à un consensus actuel autour de deux propositions, reposant toujours sur des données anatomopathologiques et cliniques, étape indispensable pour la réalisation d'études multicentriques seules à même de faire progresser la prise en charge thérapeutique [2].

1. Classification

Il est admis que la première description de vascularite remonte à 1866, par Küssmaul et Maier [3], de ce qui allait être appelé périartérite noueuse, et resté longtemps le seul cadre nosographique regroupant des pathologies diverses. Au début des années 1950, sous l'impulsion de Zeek [4], les vascularites ont été classées sur la base de critères cliniques et anatomopathologiques, en cinq entités : angéite d'hypersensibilité, angéite allergique granulomateuse, artérite rhumatoïde, périartérite noueuse et artérite temporale. La maladie de Wegener, la micropolyangéite et l'artérite de Takayasu étaient les principales omissions de cette première tentative de classification [1].

Par la suite la multiplicité des classifications proposées n'a été que le reflet de l'ignorance de l'étiopathogénie des vascularites. Progressivement un consensus s'est établi pour utiliser la taille des vaisseaux comme l'un des critères de diagnostic, reflétant en cela aussi la réponse au traitement : les vascularites des gros troncs répondent aux corti-

coïdes à doses moyennes ou fortes, celles des petits vaisseaux exclusives répondent à de plus faibles doses de corticoïdes, alors que celles de moyen calibre sont celles qui requièrent l'association du cyclophosphamide aux corticoïdes [1]. Ces dernières regroupent des entités dont le pronostic rénal est le plus sombre par atteinte glomérulaire, et sont celles qui sont associées à la présence d'ANCA, alors que celles associées aux dépôts de complexes immuns ciblent presque exclusivement les petits vaisseaux avec un meilleur pronostic [1]. Deux grandes étapes ont révolutionné la classification des vascularites au début des années 1990. Tout d'abord des critères ont été proposés par l'ACR (American College of Rheumatology) sur la base de données cliniques et épidémiologiques [5, 6, 7]. Ce sont des critères de classification et non de diagnostic pour sept vascularites : l'artérite temporale [8], la maladie de Takayasu [9], la maladie de Wegener [10], le syndrome de Churg et Strauss [11], la périartérite noueuse [12], le purpura rhumatoïde [13] et la vascularite d'hypersensibilité [14]. Le tableau I résume les sensibilités et spécificités des critères de classification de l'ACR.

Tableau I - Sensibilité et spécificité des critères de classification des vascularites de l'ACR (d'après [15])

| Vascularite | Sensibilité (%) | Spécificité (%) |
|-------------|-----------------|-----------------|
| PAN | 82,2 | 86,6 |
| CSS | 85,0 | 99,7 |
| WG | 88,2 | 92,0 |
| VH | 71,0 | 83,9 |
| HSP | 87,1 | 87,7 |
| Horton | 93,5 | 91,2 |
| Takayasu | 90,5 | 97,8 |

Ces critères souffrent de deux inconvénients majeurs : le premier est le prérequis de la preuve de la vascularite qui n'est pas toujours obtenue et qui peut conduire à des diagnostics erronés de vascularite s'ils sont utilisés par excès comme critères diagnostiques sans documentation anatomopathologique ; le second est la difficulté à séparer les différentes entités [15].

Très rapidement ce premier travail à été suivi par celui de la conférence de consensus de Chapell Hill [16]. Ce consensus d'experts introduisait la micropolyangéite, qui restait méconnue des critères de l'ACR, et tenait compte de la généralisation récente de l'utilisation des ANCA pour mieux individualiser

Tableau II - Noms et définitions des vascularites adoptés par la conférence de consensus pour la nomenclature des vascularites systémiques à Chapel Hill, Caroline du Nord, États-Unis, en 1993 (d'après [16])

| Vascularites des vaisseaux de gros calibre | |
|--|---|
| Artérite à cellules géantes (artérite temporale) | Artérite granulomateuse de l'aorte et de ses principales branches de division atteignant avec prédilection les branches de la carotide externe. Atteinte fréquente de l'artère temporale. Survient habituellement chez des patients âgés de plus de 50 ans et est souvent associée à une pseudopolyarthrite rhizomélique. |
| Artérite de Takayasu | Artérite granulomateuse de l'aorte et de ses principales branches de division. Survient habituellement chez des patients âgés de moins de 50 ans. |
| Vascularites des vaisseaux de moyen calibre | |
| Périartérite noueuse | Vascularite nécrosante des artères de moyen et petit calibre sans glomérulonéphrite, ni vascularite des artérioles, capillaires et veinules. |
| Maladie de Kawasaki | Vascularite intéressant les vaisseaux de gros, moyen et petit calibre associée à un syndrome lymphocutanéomuqueux. Atteinte fréquente des artères coronaires. Aorte et veines peuvent être atteintes. Survient habituellement chez l'enfant. |
| Vascularites des vaisseaux de petit calibre | |
| Granulomatose de Wegener* | Granulomatose de l'appareil respiratoire associée à une vascularite nécrosante des vaisseaux de petit et moyen calibre (capillaires, veinules artérioles, artères). Glomérulonéphrite nécrosante fréquente. |
| Syndrome de Churg et Strauss* | Granulomatose et infiltration éosinophilique de l'appareil respiratoire associée à une vascularite des vaisseaux de petit et moyen calibre. Asthme et hyperéosinophilie. |
| Polyangéite microscopique* | Vascularite nécrosante avec peu ou pas de dépôts immuns affectant les petits vaisseaux (capillaires, veinules, artérioles). Peut atteindre les artères de petit et moyen calibre. Glomérulonéphrite nécrosante très fréquente. Capillarite pulmonaire fréquemment observée. |
| Purpura rhumatoïde de Henoch-Schönlein | Vascularite avec dépôts d'IgA affectant les petits vaisseaux (capillaires, veinules, artérioles). Atteint typiquement la peau, le tube digestif et le rein (glomérules). Arthralgies et arthrites fréquentes. |
| Cryoglobulinémie mixte essentielle | Vascularite avec dépôts d'immunoglobulines affectant les petits vaisseaux (capillaires, veinules, artérioles). Présence d'une cryoglobulinémie. La peau et le rein (glomérules) sont souvent atteints. |
| Vascularites cutanées leucocytoclasiques | Vascularites cutanées leucocytoclasiques isolées sans vascularite systémique ni glomérulonéphrite. |

Le terme « vaisseaux de gros calibre » correspond à l'aorte et ses plus grosses branches de division. Les vaisseaux de moyen calibre sont les principales artères viscérales (rénales, hépatique, coronaires et mésentériques). Les vaisseaux de petit calibre correspondent aux veinules, capillaires, artérioles et aux artères intraparenchymateuses distales qui se connectent avec les artérioles. Certaines vascularites des gros et petits vaisseaux peuvent atteindre les vaisseaux de moyen calibre mais les vascularites des vaisseaux de moyen calibre ne doivent pas atteindre de vaisseaux plus petits que les artères.

* Association fréquente aux ANCA (antineutrophil cytoplasmic antibodies).

les différentes vascularites sans toutefois faire de ces marqueurs biologiques des critères obligatoires pour ce qui est une définition et non une classification comme celle de l'ACR (tableau II).

Depuis, sous l'impulsion de l'Agence Européenne de Médecine, un algorithme décisionnel reposant sur les critères validés des deux approches et introduisant les ANCA a été proposé [17]. La priorité est donnée aux critères diagnostiques du syndrome de Churg et Strauss qui ont été validés. La figure 1 résume la démarche. Aux étapes 3 et 4, la présence

d'ANCA permet de distinguer la micropolyangéite (ANCA positive) de la périartérite noueuse classique (ANCA négative). Une approche similaire a été faite par le groupe français d'étude des vascularites avec une sensibilité de 70,6 % et une spécificité de 92,3 % dans une cohorte de 949 patients pour la distinction micropolyangéite/périartérite noueuse [18].

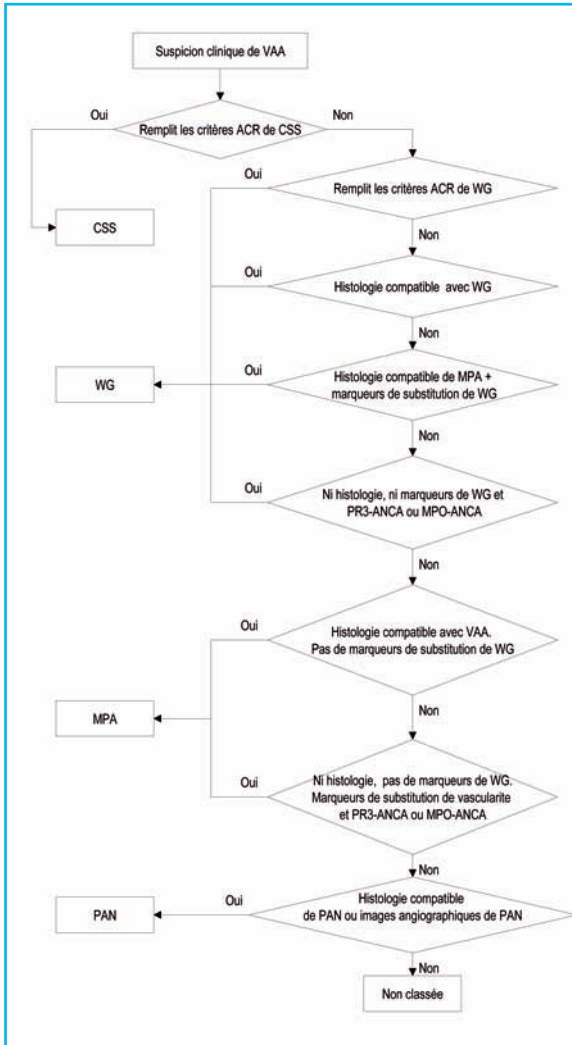


Figure 1 - Algorithme décisionnel devant un tableau clinique suspect de vascularite systémique (d'après [1])

La démarche diagnostique est décrite au chapitre classification.

ACR : American College of Rheumatology ; ANCA : anti-neutrophil cytoplasmic antibodies ; CSS : syndrome de Churg et Strauss ; MPO : myéloperoxydase ; PAN : périartérite noueuse ; PR3 : protéinase 3 ; VAA : vascularite associée aux ANCA ; WG : maladie de Wegener

2. Evaluation de l'activité

Les vascularites systémiques sont des maladies qui touchent plusieurs organes, évoluant par poussées pour lesquelles existent désormais des traitements efficaces non dénués cependant d'effets secondaires.

Une fois résolu le problème de constitution de cohortes homogènes de patients grâce aux critères de classification, se pose dans les essais cliniques celui de l'évaluation de l'activité de la maladie et de l'intensité des effets secondaires liés à la maladie ou au traitement.

Les vascularites évoluent par poussées et les indicateurs capables de renseigner sur cette activité de la

maladie sont les paramètres susceptibles de régesser avec un traitement efficace. Malheureusement le retour à la rémission peut ne pas se faire avec une restitution ad integrum, que les séquelles définitives soient la conséquence de la maladie ou de la thérapeutique immunosuppressive. Le plus souvent les dommages précoces sont imputables à la maladie, alors que les tardifs relèvent plus d'une morbidité iatrogène [19]. Ainsi dans un essai multicentrique européen (WGET pour Wegener's Granulomatosis Etanercept Trial), les séquelles liées à la maladie les plus fréquentes étaient les suivantes : surdité (25,6 %), rhinite croûteuse et hémorragique (18,9 %), perforation septale nasale (17,8 %), insuffisance rénale (17,8 %) et sténose subglottique (17,8 %). Les plus couramment observés des effets secondaires iatrogènes étaient : le diabète (7,2 %), l'atrophie musculaire (7,2 %), la cataracte (5 %), l'ostéoporose (5 %) et l'insuffisance gonadique (5 %) [20].

Le plus couramment utilisé des scores d'activité pour les vascularites associées aux ANCA (VAA) est le score BVAS (Birmingham vasculitis activity score) [21, 22] qui regroupe 66 critères répartis en neuf atteintes d'organes avec pondération.

Pour l'évaluation des dommages, deux scores sont utilisés : un score général, le VDI, pour vascular damage index [23], et l'AVID pour ANCA-associated vasculitis index damage [24], spécifique des VAA, qui regroupent une soixantaine de critères répartis en onze atteintes d'organes sans pondération.

Le VDI à un an a une valeur prédictive : de 0,47 poussée et 0,57 effet secondaire dans l'année pour un VDI de 0, on passe respectivement à 1,48 poussées et 3,24 effets secondaires pour un VDI de 4 [20]. La probabilité de développer des effets secondaires irréversibles est donc proportionnelle au VDI dès le début de l'histoire clinique [19]. La critique faite au VDI et à l'AVID porte sur leur manque de pondération alors qu'intuitivement on perçoit que certaines séquelles ont un retentissement plus important sur la qualité de vie des patients [19]. Il est par ailleurs reconnu que l'appréciation du patient diffère de celle du médecin qui le prend en charge : dans une étude portant sur 135 patients souffrant de VAA, Herlyn et coll [25] notent que ce dont se plaignent les patients sont la fatigue, les douleurs généralisées, la faiblesse musculaire, la prise de poids, la rhinite et l'anxiété, alors que certains indicateurs à plus forte valeur prédictive de morbidité tels que l'insuffisance rénale ou la nécessité d'une oxygénothérapie sont des paramètres seulement relevés par les médecins.

3. Description des pathologies

3.1. Vascularites primitives associées aux ANCA

Trois principales vascularites primitives sont associées aux ANCA : la micropolyangéite ou polyangéite microscopique, la granulomatose de Wegener et l'angéite de Churg et Strauss [26].

3.1.1. Polyangéite microscopique ou micropolyangéite

La polyangéite microscopique a été décrite dès 1923 par Wohlwill, puis plus précisément par Davson en 1948 [27]. Rapidement après l'individualisation des ANCA, on rapportait leur présence chez des patients atteints de micropolyangéite [28]. Ce n'est qu'en 1994 que la nomenclature de Chapel Hill l'a réellement individualisée [29]. Il s'agit d'une vascularite des petits vaisseaux, artérioles, capillaires et veinules, sans granulome extravasculaire. La capillarite est responsable d'une glomérulonéphrite nécrisante segmentaire et focale, associée à une prolifération extracapillaire et parfois pulmonaire, ou l'hémorragie alvéolaire peut faire partie d'un syndrome pneumorénal. S'y associent d'autres atteintes viscérales touchant surtout la peau, les muscles, les articulations et l'appareil digestif. Les atteintes ORL et les vascularites cérébrales sont peu fréquentes [27]. Une certaine confusion a longtemps régné entre périartérite noueuse et polyangéite microscopique, alors que ces maladies sont distinctes et ont des mécanismes pathogéniques différents, la seule micropolyangéite étant associée aux ANCA [30]. La micropolyangéite présente un taux de mortalité élevé et dans 15 % des cas les patients développent, au cours de l'évolution de la maladie, une fibrose pulmonaire [31]. Le délai diagnostique est plus long que dans la maladie de Wegener, expliquant la plus grande fréquence de lésions chroniques dans les tissus, comme la glomérulosclérose, l'atrophie tubulaire et les infiltrats interstitiels dans le rein [27].

Bien que le plus souvent primitive, une micropolyangéite ANCA positive, le plus souvent anti-MPO (myéloperoxydase), peut se voir associée à une infection chronique, une néoplasie ou dans un contexte de iatrogénie médicamenteuse, toutes conditions qu'il faudra toujours méticuleusement rechercher [27].

La MPA touche des sujets âgés en moyenne de plus de 50 ans, d'origine caucasienne. Peu d'études épidémiologiques sont disponibles cependant. On observe un gradient Nord-Sud en Europe, inverse de celui de la maladie de Wegener, puisque la polyan-

géite microscopique est plus fréquente dans le Sud [32].

De nombreuses études confirment la présence de pANCA dans la micropolyangéite [33]. La micropolyangéite s'associe généralement à des ANCA qui sont plus fréquemment d'aspect pANCA anti-MPO, plutôt qu'anti-PR3 (protéinase 3) [34]. Le pourcentage de pANCA anti-MPO va de 54 % pour Ronco et al. [35] à 82 % pour Gross et al [36]. Les micropolyangéites associées aux ANCA anti-PR3 sont plus fréquentes (de 20 à 50 %) en Europe et aux USA qu'en Asie [27].

3.1.2. Granulomatose de Wegener

Initialement décrite par Wegener en 1936, il s'agit d'une vascularite systémique dont les lésions siègent préférentiellement au niveau des voies aériennes supérieures, du poumon et des reins. La triade histologique classique de la granulomatose de Wegener associe des granulomes des voies aériennes supérieures et/ou inférieures, une vascularite nécrisante et granulomateuse des artères de petit calibre, des capillaires et des veinules, et une glomérulonéphrite nécrisante avec croissants. Une glomérulonéphrite nécrisante segmentaire et focale, associée à une prolifération extracapillaire, est l'atteinte rénale la plus fréquente et la plus typique [30]. L'âge et le taux de créatininémie au diagnostic sont deux facteurs de mauvais pronostic pour la fonction rénale (survie à 10 ans sans dialyse de 89 % pour une créatininémie inférieure à 1,7 mg/dL pour seulement 24 % si la créatininémie est supérieure) alors qu'un pourcentage élevé de glomérules normaux à la biopsie est un facteur de bon pronostic [19].

La granulomatose de Wegener se manifeste cliniquement par une altération de l'état général avec fièvre et amaigrissement. A ceux-ci sont associées des manifestations ORL souvent inaugurales incluant sinusite, otite séreuse, rhinite, ainsi que des troubles pulmonaires à type de toux non productive, dyspnée modérée, hémoptysie ou douleurs thoraciques. Les hémorragies intra-alvéolaires sont rares mais d'une grande gravité clinique réalisant un tableau d'insuffisance respiratoire aiguë avec anémie plus ou moins sévère. Des manifestations rénales sont observées à type d'hématurie microscopique avec ou sans protéinurie et/ou insuffisance rénale caractérisant la glomérulonéphrite nécrisante segmentaire et focale. Enfin d'autres manifestations peuvent être observées : articulaires (67 à 76 % des cas sous la forme d'arthralgies ou d'arthrites), cutanées (40 à 50 % des cas, purpura, ulcérations cutanées, nodules, papules), oculaires (40 % des cas), neurologiques (22 à 43 % des cas sous forme de multinévrites, ou d'atteinte du système nerveux central) ; moins fréquemment on

peut aussi observer des manifestations digestives, cardiaques ou urogénitales [33]. Il semblerait que des troubles de conduction, une valvulopathie ou une cardiomyopathie infracliniques seraient des facteurs de mauvais pronostic justifiant l'échocardiographie systématique au diagnostic, même en l'absence de signes cardiaques [19].

L'association entre maladie de Wegener et néoplasie est bien documentée, plus particulièrement pour le cancer de la vessie (risque relatif de 33) et les lymphomes (risque relatif de 11), attribué à l'exposition au cyclophosphamide. Plus récemment d'autres tumeurs solides ont été observées chez des patients ayant reçu du cyclophosphamide et des biothérapies de type anti-TNF (tumor necrosis factor) [19].

D'après les critères de classification de l'American College of Rheumatology, chez un sujet atteint de vascularite, la présence de 2 des 4 critères suivants permet le classement comme granulomatose de Wegener avec une sensibilité de 88,2 % et une spécificité de 92 % (tableau I) : i) inflammation nasale ou orale (épistaxis, ulcérations buccales ou faciales douloureuses) ; ii) anomalies de la radiographie pulmonaire (nodules, cavernes, infiltrats fixes) ; iii) sédiment urinaire anormal (hématurie microscopique ou cylindres) ; iv) inflammation granulomateuse à la biopsie (dans la paroi ou autour des artères ou artérioles) [29].

L'âge médian des patients au diagnostic se situe dans la cinquième décennie. Des formes ont toutefois été décrites chez l'enfant et le sujet âgé. Les deux sexes sont concernés avec une même fréquence. Les sujets à peau blanche représentent plus de 90% des cas publiés [37].

Le taux d'incidence de la maladie de Wegener est estimé entre 2 et 12 cas/an/million d'habitants et sa prévalence entre 24 et 157 cas/million d'habitants [37]. Il existe un gradient Nord-Sud, du moins en Europe ou le taux d'incidence est plus élevé dans les pays nordiques [37], mais aussi une augmentation de l'incidence globale de la maladie de Wegener ces dernières années, expliquée, en partie seulement, par une meilleure connaissance de la maladie, notamment depuis la découverte des ANCA.

Les ANCA sont présents dans plus de 90 % des formes actives de la maladie [38, 39]. Ils ont une distribution d'aspect cANCA et sont en majorité dirigés contre la PR3 [30, 38]. Toutefois, un certain nombre d'authentiques maladies de Wegener s'accompagnent d'anticorps d'aspect pANCA avec une spécificité antigénique de type MPO. Leur pourcentage varie autour de 10 % [38, 40].

3.1.3. Syndrome de Churg et Strauss

Il s'agit d'une angéite granulomateuse allergique, individualisée en 1951 par J. Churg et L. Strauss [41]. Il se caractérise par l'existence d'un asthme grave, d'une hyperéosinophilie sanguine et d'une angéite nécrosante touchant les artères et les veinules de petit calibre [42]. Des infiltrats à éosinophiles et des granulomes géantocellulaires, périvasculaires, et surtout extravasculaires s'associent aux lésions vasculaires. Les trois éléments histologiques (nécrose fibrinoïde de la paroi des vaisseaux de petit calibre, infiltrats tissulaires à éosinophiles et granulomes extravasculaires), caractéristiques de l'affection, ne coexistent pas toujours sur le même site biopsique [30].

On lui décrit trois phases successives : une première phase asthmatique ou atopique de type rhinite par exemple, suivie, dans un délai de plusieurs mois à parfois plusieurs années, par des manifestations cliniques secondaires à une infiltration éosinophilique pulmonaire ou digestive, et enfin une troisième phase marquée par des signes de vascularite [42]. Cliniquement cette dernière se manifeste en moyenne trois ans après le début de la maladie asthmatique. Il s'installe rapidement, dans un contexte d'altération importante de l'état général avec fièvre, associant à l'asthme des infiltrats pulmonaires, une insuffisance respiratoire aiguë, ou, plus souvent, des manifestations cardiaques, digestives ou nerveuses, très vites préoccupantes. Le pronostic est conditionné par les atteintes coronariennes et myocardiques.

Le syndrome de Churg et Strauss peut affecter des sujets de tous âges, avec une fréquence maximale entre 30 et 50 ans, et une légère prédominance masculine. C'est une des vascularites systémiques les plus rares, et sa prévalence en France [43] a été estimée à 10,7 par million d'adultes dans la population générale. Son incidence est estimée entre 1,3 et 6,8 cas par million d'habitants [42]. Elle est nettement plus élevée, de l'ordre de 64,4 par million, dans des populations de patients asthmatiques traités, quelles que soient les médications utilisées [44], témoignant du terrain particulier sur lequel cette affection se développe.

L'atteinte d'organe la plus fréquente est l'atteinte nerveuse périphérique sous forme de multinévrite. Au niveau pulmonaire, plus de la moitié des patients ont des manifestations à type d'infiltrats transitoires, exceptionnellement cavitaires, de pleurésie à prédominance éosinophilique chez un cinquième des patients, et jusqu'à 7 % d'hémorragie intra-alvéolaire. L'atteinte cardiaque est documentée dans 16 à 50 % des cas sous forme de myocardite, coronarite, valvulopathie et insuffisance cardiaque. Elle est la

principale cause de mortalité. L'atteinte digestive par infiltration éosinophile est observée dans un quart des cas, responsable de douleurs abdominales, ascite et diarrhée parfois hémorragique. Environ un quart des patients souffrent d'atteinte rénale qui se présente le plus souvent sous la forme d'une glomérulonéphrite pauci-immune ANCA positive. L'atteinte du système nerveux central sous la forme de paralysie des nerfs crâniens, d'hémorragie ou d'infarctus est peu fréquente mais grave. L'hyperéosinophilie n'est pas toujours retrouvée chez les patients asthmatiques ayant reçu une corticothérapie prolongée [42].

Selon les critères de l'ACR, chez un sujet atteint de vascularite [11], la présence de 4 des 6 critères suivants permet le classement comme syndrome de Churg et Strauss avec une sensibilité de 85 % et une spécificité de 99,7 % (tableau I) : asthme, éosinophilie sanguine supérieure à 1500/ μ L, anomalies de la radiographie pulmonaire, antécédent d'allergie, infiltrats pulmonaires labiles, douleur ou opacité sinusienne, présence d'éosinophiles extravasculaires à la biopsie. Ces critères sont les plus fréquemment utilisés. Ils n'ont pas été modifiés par la conférence de consensus de Chapell Hill. Ils ne prennent toute leur valeur qu'associés à une confirmation anatomopathologique. Pour preuve, les patients souffrant d'aspergillose bronhopulmonaire allergique ou de pneumonie chronique éosinophile peuvent se présenter avec un asthme, une sinusite, des infiltrats pulmonaires et une hyperéosinophilie sanguine, quatre des critères du syndrome de Churg et Strauss [42].

Le syndrome de Churg et Strauss est habituellement associé à des ANCA d'aspect pANCA ayant pour spécificité antigénique la MPO ; ils sont retrouvés avec une fréquence de 60 %. Les anticorps anti-PR3 d'aspect cANCA sont présents dans 10 % des cas [43]. Le statut sérologique, à savoir la positivité des ANCA, semble distinguer deux groupes de patients. Les patients ANCA positifs ont plus fréquemment des atteintes rénales, nerveuses et cutanées et des hémorragies intra-alvéolaires, alors que ceux qui sont ANCA négatifs souffrent plus d'atteinte cardiaque, digestive ou pulmonaire [45, 46]. Dans le premier groupe ce sont les conséquences de la vascularite due aux ANCA qui prédominent, alors que dans le second c'est l'infiltration tissulaire éosinophile qui est au premier plan [42].

Les investigations chez un patient suspect d'avoir un syndrome de Churg et Strauss cherchent à exclure les autres causes d'hyperéosinophilie et à faire la preuve de l'existence d'une vascularite primitive. Outre les deux pathologies citées précédemment, la diagnostic différentiel comporte les autres VAA (maladie de Wegener et micropolyangéite) et le syn-

drome hyperéosinophilique idiopathique avec ses mutations caractéristiques.

3.1.4. Glomérulonéphrite extracapillaire à faible composant immunitaire

Les glomérulonéphrites extra-capillaires sans dépôts d'immunoglobulines sont souvent considérées comme des affections idiopathiques exclusivement rénales, mais elles peuvent s'intégrer dans le cadre d'une vascularite nécrosante systémique affectant de façon prédominante les capillaires glomérulaires.

L'examen histologique montre une prolifération cellulaire dite extracapillaire, formant des croissants dans l'espace urinaire du glomérule. Les lésions de nécrose fibrinoïde et de prolifération affectent une proportion variable des glomérules pouvant aller jusqu'à une atteinte sévère diffuse gravissime avec rupture possible de la capsule de Bowman [47].

Les glomérulonéphrites extracapillaires ont été classées en trois grands types immunopathologiques selon les données de l'examen direct en immunofluorescence de la biopsie rénale [48].

Le type I ou glomérulonéphrites avec anticorps anti-membrane basale glomérulaire qui peut être primitive, encore appelée maladie de Goodpasture, ou secondaire à des situations variées (glomérulonéphrite extramembraneuse, lymphome, amylose, médicamenteuse [hydralazine, D-pénicillamine], lithotritie, syndrome d'Alport) dans de très rares cas.

Le type II ou glomérulonéphrites avec généralement dépôts granuleux d'immunoglobulines observées dans de nombreuses situations :

- infections: streptocoque, staphylocoque, légionellose, infections profondes ...;
- maladies systémiques : lupus érythémateux systémique;
- purpura rhumatoïde de Henoch-Schönlein;
- cryoglobulinémie mixte;
- cancers et hémopathies;
- secondaires à une glomérulonéphrite primitive : glomérulonéphrite extramembraneuse, néphropathie à dépôts mésangiaux d'IgA, glomérulonéphrites membranoprolifératives.

Le type III ou glomérulonéphrites avec peu de dépôts d'immunoglobulines (pauci-immune des anglo-saxons) qui regroupe les VAA (granulomatose de Wegener, polyangéite microscopique, maladie de Churg et Strauss). La glomérulonéphrite extra-capillaire nécrosante "pauci-immune" (GNECPI) est une pathologie du sujet âgé, se présentant sous forme

d'une glomérulonéphrite rapidement progressive avec hématurie et protéinurie associées à une insuffisance rénale accélérée. La GNECPI peut être isolée (25 %) ou associée (75 %) à une vascularite comme la granulomatose de Wegener (17 %) ou la micropolyangéite (58 %). L'atteinte rénale se voit dans 90 % des micropolyangéites, 80 % des maladies de Wegener et 45 % des syndromes de Churg et Strauss. Elle peut s'accompagner de signes extrarénaux : pulmonaires, ORL, articulaires, neurologiques ou purpura [47]. Des signes généraux (fièvre, fatigue, amaigrissement, myalgies et arthralgies) sont souvent rapportés dans les jours ou les semaines qui précèdent le diagnostic au même titre que des prodromes d'allure pseudogrippal [47].

Falk et Jennette [49] ont établi l'intérêt diagnostique et évolutif des ANCA au cours des glomérulonéphrites primitives à croissants. La recherche des ANCA a été effectuée chez 117 patients dont 35 ayant une glomérulonéphrite nécrosante extracapillaire pauci-immune. Les ANCA ont été retrouvés chez 71 % des patients avec une glomérulonéphrite extracapillaire isolée, chez 75 % des patients ayant des signes extrarénaux de vascularite, et chez 90 % des patients atteints de maladie de Wegener ou de

micropolyangéite.

Les ANCA associés sont principalement du type pANCA avec une spécificité antigénique de type MPO tandis que les anticorps de type cANCA ayant pour cible antigénique la PR3 sont retrouvés dans 20 % des cas, et dans 10 % des cas la recherche d'ANCA est négative.

3.1.5. Syndrome pneumorénal

Le syndrome pneumorénal a été décrit pour la première fois en 1919 par EW Goodpasture chez un jeune patient présentant une hémorragie pulmonaire fatale associée à une glomérulonéphrite sévère. Il s'agit d'un syndrome aigu associant une glomérulonéphrite rapidement progressive à une vascularite pulmonaire responsable d'hémoptysie par capillarite alvéolaire. L'évolution peut être fatale par hémorragie intrapulmonaire massive [50], ce qui justifie la recherche en urgence des ANCA et des anticorps anti-MBG.

Les trois types d'atteintes immunologiques décrites au chapitre des GNECPI peuvent se manifester par un syndrome pneumorénal. Il faut y ajouter une cause

Tableau III - Principales étiologies du syndrome pneumorénal en fonction de la pathogénie (d'après [50])

| Facteurs pathogènes | Maladies |
|--|---|
| Anti-MBG | Syndrome de Goodpasture |
| Vascularite ANCA positive | Maladie de Wegener Micropolyangéite Syndrome de Churg et Strauss |
| Vascularite ANCA négative | Purpura rhumatoïde Cryoglobulinémie Maladie de Behçet Maladie de Berger |
| Syndrome pneumorénal ANCA positif sans vascularite | GNECPI et capillarite pulmonaire |
| VAA iatrogènes | Propylthiouracile D-Pénicillamine Hydralazine Allopurinol Sulfasalazine |
| Anti-MBG + ANCA | Syndrome pneumorénal |
| Rhumatismes inflammatoires | Lupus érythémateux systémique Sclérodermie Polymyosite Polyarthrite rhumatoïde Connectivite mixte |
| Microangiopathie thrombotique | SAPL Purpura thrombotique thrombocytopénique Infections Néoplasies |

ANCA : antineutrophil cytoplasmic antibodies ; GNECPI : glomérulonéphrite extracapillaire pauci-immune ; MBG : membrane basale glomérulaire ; SAPL : syndrome des anti-phospholipides ; VAA : vascularites associées aux ANCA

non immunologique, les microangiopathies thrombotiques (tableau III). Toutes étiologies confondues, le syndrome pneumorénal représente un motif d'admission fréquent en unité de réanimation médicale, avec une mortalité estimée de 25 à 50 % [50].

Les lésions pulmonaires sont consécutives dans la majorité des cas à une vascularite des petits vaisseaux conduisant à une capillarite nécrotique. La rupture de la continuité du lit endothélial conduit à l'irruption du sang dans les alvéoles, expliquant hémoptysies et hémorragies intra-alvéolaires.

Dans l'étude de Saxena et al. [51], 40 patients ont été sélectionnés, présentant tous un syndrome pneumorénal dont le diagnostic a été retenu sur des critères cliniques, histologiques et radiologiques. La majorité des patients (75 %) avait une vascularite systémique, 7 patients une maladie de Wegener, 9 une micropolyangéite, alors que 15 patients ont été classés comme ayant une vascularite non spécifique. Neuf patients (17,5 %) avaient un syndrome de Goodpasture avec présence d'anticorps anti-MBG. Dans cette série on a détecté chez 90 % des patients un ou plusieurs types d'autoanticorps circulants : PR3-ANCA dans 45 % des cas, MPO-ANCA dans 20 % des cas, anti-MBG dans 15 % des cas, anti-MBG associés aux MPO-ANCA dans 7,5 % des cas et enfin PR3-ANCA associés aux MPO-ANCA dans 2,5 % des cas. Il n'y a pas de réactivité croisée entre les cibles de ces deux types d'autoanticorps (ANCA et anti-MBG). L'hypothèse serait que les ANCA préexisteraient, provoquant, par les lésions de vascularites induites, un démasquage du domaine non collagène de la chaîne $\alpha 3$ du collagène de type IV (NC1 $\alpha 3$ IV), cible des anticorps anti-MBG [50].

En l'absence d'hémoptysie, ce qui peut se voir dans 30 à 35 % des cas, un tableau associant fièvre et infiltrats pulmonaires ressemblant à une pneumonie doit faire évoquer un syndrome pneumorénal si l'un des signes suivants est présent : chute de l'hémoglobine, insuffisance rénale, sinusite, multinévrite, polyarthralgies, asthme, péricardite, purpura, insuffisance cardiaque [50].

L'imagerie pulmonaire (radiographie, tomographie) visualise l'hémorragie intra-alvéolaire sous forme d'infiltrats avec cependant 22 % de radiographies considérées comme normales. Si nécessaire, et si la fonction respiratoire le permet, l'examen du liquide de lavage bronchoalvéolaire retrouvera des sidérophages. L'hématurie et la protéinurie, le plus souvent sans syndrome néphrotique, sont les deux signes d'atteinte rénale les plus fréquents. Dès lors qu'il existe une atteinte rénale, la ponction biopsie rénale avec étude par immunofluorescence est le test diagnostique.

Il en résulte deux groupes distincts : l'un avec seule-

ment des ANCA (PR3, MPO ou les deux associés) correspondant dans les 2/3 des cas à des patients avec vascularite des petits vaisseaux, l'autre avec autoanticorps anti-MBG, la plupart des patients de ce groupe présentant des dépôts linéaires d'immunoglobulines le long des membranes basales glomérulaires. Le syndrome pneumorénal est plus fréquemment dû aux vascularites à ANCA qu'au syndrome de Goodpasture avec anticorps anti-MBG [51]. Les patients ayant les deux types d'autoanticorps semblent avoir un plus mauvais pronostic en raison des rechutes possibles que ceux qui n'ont que des anticorps anti-MBG, le syndrome de Goodpasture évoluant en règle générale en une seule poussée [47].

3.2. Autres vascularites

Nous ne ferons que citer les autres vascularites, qui sont en règle générale ANCA négatives et qui interviennent donc à l'étape du diagnostic différentiel des VAA [16].

3.2.1. Périartérite noueuse

La périartérite noueuse classique est distinguée de la micropolyangéite dans la classification de Chapel Hill [16] par la taille des vaisseaux atteints (moyen calibre pour la première, petit calibre pour la seconde), et par l'absence d'ANCA. Son incidence annuelle se situe entre 2 et 9 par million d'individus [52]. Le tableau clinique typique associe une altération de l'état général (fièvre, asthénie, amaigrissement) à des atteintes d'organes diversement associées. Le diagnostic repose sur les biopsies d'organes atteints qui retrouvent une nécrose fibrinoïde des vaisseaux de moyen calibre avec rupture de la limitante élastique interne, et les données d'artériographie visualisant des microanévrismes, des sténoses voire des occlusions. Cette maladie survient parfois dans un contexte infectieux viral, le plus souvent lors d'une hépatite B, mais aussi hépatite C ou VIH (virus de l'immunodéficience humaine) [52].

3.2.2. Maladie de Kawasaki

Il s'agit d'une artérite qui touche les artères de moyen calibre et qui associe un syndrome mucocutané et des adénopathies. Cette affection atteint avec prédilection les artères coronaires et peut produire des anévrismes avec thrombose et infarctus du myocarde. Elle survient plus spécifiquement chez l'enfant [16]. Elle représente la première cause de cardiopathie acquise, avec une plus grande fréquence au Japon, où 80 % des enfants atteints ont moins de cinq ans [52]. Le tableau clinique typique

associe une fièvre suivie dans les trois jours d'une injection conjonctivale, d'un rash cutané évoluant vers la desquamation, et d'adénopathies cervicales dans environ trois quarts des cas [53]. L'atteinte cardiaque en fait toute la gravité, avec des anévrismes coronariens, retrouvés dans 15 à 25 % des cas et régressant sous traitement (aspirine et immunoglobulines intraveineuses) pour 50 à 67 % des cas dans les deux ans [53].

Dans cette pathologie, la recherche d'ANCA est généralement négative. Toutefois leur présence a été rapportée notamment par Savage et al. chez 10 patients sur 11 atteints de la maladie de Kawasaki [54]. Dans l'étude de Soppi et al., les ANCA sont retrouvés dans 36 % des cas de syndrome de Kawasaki, et la répartition de fluorescence en IFI est plus souvent de type cANCA que pANCA [55].

3.2.3. Purpura rhumatoïde

Le purpura rhumatoïde, ou syndrome de Henoch-Schönlein est une vascularite systémique plus fréquente chez l'enfant, associant une éruption purpurique à des manifestations articulaires, gastro-intestinales et rénales. Il s'agit d'une vascularite à dépôts mésangiaux d'IgA.

Des ANCA ont été décrits chez des patients souffrants de purpura rhumatoïde [56], toutefois d'autres auteurs n'ont pas confirmé ces résultats. En effet dans une étude [57] portant sur 100 patients ayant une néphropathie à IgA et 30 enfants avec un purpura rhumatoïde, seulement 2 des 100 patients avec une néphropathie à IgA avaient des ANCA d'isotype IgG et de spécificité anti-MPO, et il n'a pas été décelé d'ANCA d'isotype IgA. Chez les 30 enfants atteints de purpura rhumatoïde la recherche d'ANCA été négative.

4. Conclusion

L'apport des ANCA au diagnostic des vascularites nécrosantes est un des succès de l'immunologie clinique de ces dernières années [58]. Le diagnostic de VAA est difficile car ces maladies sont rares, et leur présentation excessivement polymorphe.

Alors que les cANCA de titre élevé sont principalement retrouvés dans la maladie de Wegener et qu'ils ont le plus souvent une spécificité anti-PR3, les pANCA se retrouvent dans une gamme plus étendue de pathologies associées ou non à des signes de vascularites et reconnaissent différents autoantigènes, au premier rang desquels se situe la MPO, et dont certains ne sont pas encore identifiés à ce jour. Néanmoins les pANCA anti-MPO de titre élevé se voient de préférence au cours des vascularites nécro-

santes primitives avec atteinte rénale prédominante.

L'importance diagnostique de leur présence dans certaines situations cliniques critiques, notamment syndrome pneumoréal avec menace d'hémorragie intra-alvéolaire, justifie que leur détection par IFI et immunodot soit considérée comme un examen immunologique d'urgence quand l'évolution ne laisse pas le temps d'attendre les résultats des éventuelles biopsies pour mettre en route un traitement immunosuppresseur. La recherche par immunodot, tests ELISA unitaires ou multiplexage des spécificités anti-PR3, anti-MPO, mais aussi anti-MBG, est particulièrement adaptée à ce tableau de glomérulonéphrite rapidement progressive. Dans les autres cas la recherche d'ANCA et la détermination de leur spécificité n'a pas la vocation de remplacer les biopsies, examens invasifs, qui, seules encore aujourd'hui, permettent de démembrer les vascularites, dont on peut espérer que, sous certaines conditions, les prochaines classifications incluront les ANCA dans leurs critères diagnostiques [59].

La prise en charge de ces pathologies complexes doit tenir compte de l'existence de formes réfractaires difficiles à traiter, d'un taux de rechutes élevé pour certaines pathologies, conduisant à des taux cumulatifs d'immunosuppresseurs au potentiel iatrogène avéré [60]. En France désormais, il existe un Centre de Compétence, le Groupe Français d'Etude des Vascularites (GFEV) qui permet d'optimiser cette prise en charge [61].

Références

- [1] **Watts RA, Scott DG.** Recent developments in the classification and assessment of vasculitis. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2009;23:429-43.
- [2] **Cid MC.** Systemic vasculitis: still a long and winding road. *Curr Opin Rheumatol.* 2008;20:1-2.
- [3] **Küssmaul A, Maier K.** Über eine nicht bisher beschriebene eigenthümliche Arterienerkrankung (Periarthritis Nodosa), die mit Morbus Brightii und rapid fortschreitender allgemeiner Muskellähmung einhergeht. *Dtsch Arch Klin Med.* 1866;1:484-518.
- [4] **Zeek PM.** Periarthritis nodosa and other forms of necrotizing angiitis. *N Engl J Med.* 1953;248:764-72.
- [5] **Fries JF, Hunder GG, Bloch DA, Michel BA, Arend WP, Calabrese LH, et al.** The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of vasculitis. Summary. *Arthritis Rheum.* 1990;33:1135-6.
- [6] **Bloch DA, Michel BA, Hunder GG, McShane DJ, Arend WP, Calabrese LH, et al.** The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classi-

fication of vasculitis. Patients and methods. *Arthritis Rheum.* 1990;33:1068-73.

[7] **Hunder GG, Arend WP, Bloch DA, Calabrese LH, Fauci AS, Fries JF, et al.** The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of vasculitis. Introduction. *Arthritis Rheum.* 1990;33:1065-7.

[8] **Hunder GG, Bloch DA, Michel BA, Stevens MB, Arend WP, Calabrese LH, et al.** The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of giant cell arteritis. *Arthritis Rheum.* 1990;33:1122-8.

[9] **Arend WP, Michel BA, Bloch DA, Hunder GG, Calabrese LH, Edworthy SM, et al.** The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of Takayasu arteritis. *Arthritis Rheum.* 1990;33:1129-34.

[10] **Leavitt RY, Fauci AS, Bloch DA, Michel BA, Hunder GG, Arend WP, et al.** The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of Wegener's granulomatosis. *Arthritis Rheum.* 1990;33:1101-7.

[11] **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;33:1094-100.

[12] **Lightfoot RW Jr, Michel BA, Bloch DA, Hunder GG, Zvaifler NJ, McShane DJ, et al.** The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of polyarteritis nodosa. *Arthritis Rheum.* 1990;33:1088-93.

[13] **Mills JA, Michel BA, Bloch DA, Calabrese LH, Hunder GG, Arend WP, et al.** The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of Henoch-Schönlein purpura. *Arthritis Rheum.* 1990;33:1114-21.

[14] **Calabrese LH, Michel BA, Bloch DA, Arend WP, Edworthy SM, Fauci AS, et al.** The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of hypersensitivity vasculitis. *Arthritis Rheum.* 1990;33:1108-13.

[15] **Kallenberg CG.** The last classification of vasculitis. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2008;35:5-10.

[16] **Jennette JC, Falk RJ, Andrassy K, Bacon PA, Churg J, Gross WL, et al.** Nomenclature of systemic vasculitides. Proposal of an international consensus conference. *Arthritis Rheum.* 1994;37:187-92.

[17] **Watts R, Lane S, Hanslik T, Hauser T, Hellmich B, Koldingsnes W, et al.** Development and validation of a consensus methodology for the classification of the ANCA-associated vasculitides and polyarteritis nodosa for epidemiological studies. *Ann Rheum Dis.* 2007;66:222-7.

[18] **Henegar C, Pagnoux C, Puéchal X, Zucker JD, Bar-Hen A, Le Guern V, et al.** A paradigm of diagnostic criteria for polyarteritis nodosa: analysis of a series of 949 patients with vasculitides. *Arthritis Rheum.* 2008;58:1528-38.

[19] **Seo P.** Wegener's granulomatosis: managing more than inflammation. *Curr Opin Rheumatol.* 2008;20:10-6.

[20] **Seo P, Min YI, Holbrook JT, Hoffman GS, Merkel PA, Spiera R, et al.** Damage caused by Wegener's granulomatosis and its treatment. Prospective data from the Wegener's Granulomatosis Etanercept Trial (WGET). *Arthritis Rheum.* 2005;52:2168-78.

[21] **Luqmani RA, Bacon PA, Moots RJ, Janssen BA, Pall A, Emery P, et al.** Birmingham Vasculitis Activity Score (BVAS) in systemic necrotizing vasculitis. *QJM.* 1994;87:671-8.

[22] **Luqmani RA, Exley AR, Kitas GD, Bacon PA.** Disease assessment and management of the vasculitides. *Baillieres Clin Rheumatol.* 1997;11:423-46.

[23] **Exley AR, Bacon PA, Luqmani RA, Kitas GD, Gordon C, Savage CO, et al.** Development and initial validation of the Vasculitis Damage Index for the standardized clinical assessment of damage in the systemic vasculitides. *Arthritis Rheum.* 1997;40:371-80.

[24] **Seo P, Luqmani RA, Flossmann O, Hellmich B, Herlyn K, Hoffman GS, et al.** The future of damage assessment in vasculitis. *J Rheumatol.* 2007;34:1357-71.

[25] **Herlyn K, Hellmich B, Seo P, Merkel PA, for the Vasculitis Clinical Research Consortium.** Patient-reported outcome assessment in vasculitis provides important data and a unique perspective. *Clin Exp Rheumatol.* 2007;25:S-117.

[26] **Guillevin L, Mahr A, Cohen P.** Systemic necrotizing vasculitides: classifications and therapeutic strategies. *Rev Med Interne.* 2003;24:172-82.

[27] **Jayne D.** Challenges in the management of microscopic polyangiitis: past, present and future. *Curr Opin Rheumatol.* 2008;20:3-9.

[28] **Feehally J, Wheeler DC, Walls J, Jones S, Lockwood CM, Savage CO.** A case of microscopic polyarteritis associated with antineutrophil cytoplasmic antibodies. *Clin Nephrol.* 1987;27:214-5.

[29] **Pagnoux C.** Maladie de Wegener et polyangéite microscopique. *Rev Prat.* 2008;58:522-32.

[30] **Guillevin L, Pagnoux C.** Classification des vascularites systémiques. *Rev Prat.* 2008;58:480-6.

[31] **Guillevin L, Lhote F.** Polyarteritis nodosa and microscopic polyangiitis. *Clin Exp Immunol.* 1995;101(Suppl 1):22-3.

- [32] Lane SE, Watts R, Scott DG. Epidemiology of systemic vasculitis. *Curr Rheumatol Rep.* 2005;7:270-5.
- [33] Savige JA, Gallicchio M, Georgiou T, Davies DJ. Diverse target antigens recognized by circulating antibodies in anti-neutrophil cytoplasm antibody-associated renal vasculitides. *Clin Exp Immunol.* 1990;82:238-43.
- [34] Venning MC, Quinn A, Broomhead V, Bird AG. Antibodies directed against neutrophils (C-ANCA and P-ANCA) are of distinct diagnostic value in systemic vasculitis. *Q J Med.* 1990;77:1287-96.
- [35] Bindi P, Mougenot B, Mentre F, Noel LH, Peraldi MN, Vanhille P, et al. Glomérulonéphrite extracapillaire nécrosante sans dépôts d'immunoglobuline. Localisation rénale d'une vascularite systémique avec anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires. *Presse Med.* 1991;20:1939-43.
- [36] Schmitt WH, Csernok E, Gross WL. ANCA and infection. *Lancet.* 1991;337:1416-7.
- [37] Mahr AD, Neogi T, Merkel PA. Epidemiology of Wegener's granulomatosis: lessons from descriptive studies and analyses of genetic and environmental risk determinants. *Clin Exp Rheumatol.* 2006;24(2 Suppl 41):S82-91.
- [38] Finkielman JD, Lee AS, Hummel AM, Viss MA, Jacob GL, Homburger, et al. ANCA are detectable in nearly all patients with active severe Wegener's granulomatosis. *Am J Med.* 2007;120:643 e9-14.
- [39] Moosig F, Lamprecht P, Gross WL. Wegener's granulomatosis: the current view. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2008;35:19-21.
- [40] Lesavre P. Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies antigen specificity. *Am J Kidney Dis.* 1991;18:159-63.
- [41] Churg J, Strauss L. Allergic granulomatosis, allergic angiitis, and periarteritis nodosa. *Am J Pathol.* 1951;27:277-301.
- [42] Sinico RA, Bottero P. Churg-Strauss angiitis. *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2009;23:355-66.
- [43] 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.* 2004;51:92-9.
- [44] 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.* 1999;8:179-89.
- [45] 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;52:2926-35.
- [46] 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;143:632-8.
- [47] Lionaki S, Jennette JC, Falk RJ. Anti-neutrophil cytoplasmic (ANCA) and anti-glomerular basement membrane (GBM) autoantibodies in necrotizing and crescentic glomerulonephritis. *Semin Immunopathol.* 2007;29:459-74.
- [48] Couser WG. Rapidly progressive glomerulonephritis: classification, pathogenetic mechanisms, and therapy. *Am J Kidney Dis.* 1988;11:449-64.
- [49] Falk RJ, Jennette JC. Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies with specificity for myeloperoxidase in patients with systemic vasculitis and idiopathic necrotizing and crescentic glomerulonephritis. *N Engl J Med.* 1988;318:1651-7.
- [50] Papiris SA, Manali ED, Kalomenidis I, Kapotsis GE, Karakatsani A, Roussos C. Bench-to-bedside review: pulmonary-renal syndromes - an update for the intensivist. *Crit Care.* 2007;11:213.
- [51] Saxena R, Bygren P, Arvastson B, Wieslander J. Circulating autoantibodies as serological markers in the differential diagnosis of pulmonary renal syndrome. *J Intern Med.* 1995;238:143-52.
- [52] Khasnis A, Langford CA. Update on vasculitis. *J Allergy Clin Immunol.* 2009;123:1226-36.
- [53] Dajani AS, Taubert KA, Gerber MA, Shulman ST, Ferrieri P, Freed M, et al. Diagnosis and therapy of Kawasaki disease in children. *Circulation.* 1993;87:1776-80.
- [54] Savage CO, Tizard J, Jayne D, Lockwood CM, Dillon MJ. Antineutrophil cytoplasm antibodies in Kawasaki disease. *Arch Dis Child.* 1989;64:360-3.
- [55] Soppi E, Salo E, Pelkonen P. Antibodies against neutrophil cytoplasmic components in Kawasaki disease. *Apmis.* 1992;100:269-72.
- [56] van den Wall Bake AW, Lobatto S, Jonges L, Daha MR, van Es LA. IgA antibodies directed against cytoplasmic antigens of polymorphonuclear leukocytes in patients with Henoch-Schoenlein purpura. *Adv Exp Med Biol.* 1987;216B:1593-8.
- [57] Ronda N, Esnault VLM, Layward L, Sepe V, Allen A, Feehally J, et al. Antineutrophil cytoplasm antibodies (ANCA) of IgA isotype in adult Henoch-Schönlein purpura. *Clin Exp Immunol.* 1994;95:49-55.

[58] Humbel RL. Les vascularites. In : Autoanticorps et maladies auto-immunes. Paris : Elsevier ; 1997. p. 119-27.

[59] Segelmark M, Westman K, Wieslander J. How and why should we detect ANCA? Clin Exp Rheumatol. 2000;18:629-35.

[60] Puéchal X. Antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitides. Joint Bone Spine. 2007;74:427-35.

[61] <http://www.vascularites.org/>



ANCA et maladie de Churg et Strauss

René-Louis HUMBEL

Laboratoire Luxembourgeois d'Immunopathologie (LLIP), L-4149 Esch-sur-Alzette, Luxembourg

La présence d'anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles (ANCA) dans la maladie de Churg et Strauss est signalée en 1990 par Tervaert et al [1] qui identifient chez six malades des anticorps anti-myéloperoxydase (MPO). Plusieurs publications vont confirmer cette observation en montrant que des ANCA-MPO sont présents chez 50 % des malades atteints de cette maladie. L'aspect en immunofluorescence sur les granulocytes fixés à l'éthanol est le plus souvent rapporté comme périnucléaire (P-ANCA). Il existe cependant des cas avec un aspect cytoplasmique (C-ANCA) [2-6]. Cependant, il s'agit presque toujours d'anticorps anti-MPO (tableau I).

Dans le cadre de la recherche des ANCA réalisée en routine, nous avons rencontré ces dernières années, dix échantillons qui, en immunofluorescence sur polynucléaires fixés à l'éthanol, donnaient un aspect C-ANCA caractéristique avec gros grains, mais qui réagissaient exclusivement avec la MPO. Le même aspect C-ANCA était observé sur les granulocytes fixés au formol. Aucune réactivité n'a été observée pour la protéinase 3, l'élastase, la lactoferrine, la cathepsine G ou la BPI. Les caractéristiques cliniques ont pu être obtenues pour huit des patients dont provenaient les échantillons C-ANCA-MPO et celles-ci ont confirmé le diagnostic de maladie de Churg et Strauss.

Tableau I – ANCA dans la maladie de Churg et Strauss

| | ANCA | C-ANCA | P-ANCA | Inclassables | Ac anti-MPO |
|--------------------------|--------------|-------------|-------------|--------------|--------------------|
| Cohen Tervaert, 1990 [1] | 6 | 3 | 3 | 0 | 3/6 (50%) |
| Gaskin, 1990 [7] | 6/14 (43%) | 3 | 3 | 0 | 9/14 (64%) |
| Schnabel, 1996 [8] | 7/17 (41%) | 5 | 2 | 0 | 2/17 (12%) |
| Reid, 1998 [9] | 10/17 (59%) | 0 | 0 | 10 | Non indiqué |
| Hagen, 1998 [10] | 6/9 (67%) | 3 | 3 | 0 | 5/9 (56%) |
| Guillevin, 1999 [11] | 20/42 (48%) | 1 | 15 | 4 | 10/11 testés (91%) |
| Solans, 2001 [12] | 14/18 (78%) | 1 | 13 | 0 | 13/18 (72%) |
| Della Rossa, 2002 [13] | 7/18 (39%) | Non indiqué | Non indiqué | Non indiqué | 7/18 (39%) |
| Keogh, 2003 [14] | 22/30 (73%) | 1 | 21 | 0 | 28/37 testés (76%) |
| Sinico, 2005 [5] | 35/93 (38%) | 3 | 26 | 6 | 30/93 (32%) |
| Sablé-Fourtassou [6] | 43/112 (38%) | 4 | 39 | 0 | 34/112 (30%) |

La maladie de Churg et Strauss est une vascularite microscopique voisine de la périartérite noueuse mais avec des manifestations caractéristiques. Elle associe un asthme, une hyperéosinophilie, une multinévrite. Les patients avec ANCA présentent fréquemment une atteinte rénale (tableau II).

Tableau II - Manifestations cliniques de la maladie de Churg-Strauss avec et sans ANCA, d'après [5]

| | ANCA+ | ANCA- | p |
|--------------------------------|------------|------------|------------------|
| Asthme | 97% | 95% | 1,00 |
| Hémorragies pulmonaires | 20% | 0 | 0,001 |
| Purpura | 26% | 7% | 0,015 |
| Atteinte rénale | 51% | 12% | <0,001 |

La MPO est contenue dans les granules azurophiles du cytoplasme des polynucléaires neutrophiles. Lorsque les étalements de polynucléaires sont fixés par l'éthanol, les granules sont lysés et la MPO est libérée dans le cytoplasme. En raison de sa forte charge cationique la MPO se lie à la chromatine du noyau ce qui explique l'aspect P-ANCA observé avec les anticorps anti-MPO. L'existence d'anticorps anti-MPO qui donnent un aspect C-ANCA a déjà été signalée en 1994 par Segelmark et col [2] puis par Wong et col en 2001 [4]. L'aspect C-ANCA pourrait s'expliquer par la reconnaissance de certains épitopes de la MPO qui demeurent dans les granules après fixation par l'éthanol, ce qui pour le moment n'a pu être démontré.

Références

- [1] *Tervaert JW, Goldschmeding R, Elema JD, Limburg PC, van der Giessen M, Huitema MG, et al.* Association of autoantibodies to myeloperoxidase with different forms of vasculitis. *Arthritis Rheum.*1990;33:1264-72.
- [2] *Segelmark M, Baslund B, Wieslander J.* Some patients with anti-myeloperoxidase autoantibodies have a C-ANCA pattern. *Clin Exp Immunol.* 1994;96:458-65.
- [3] *Eustace JA, Nadasdy T, Choi M.* The Churg Strauss syndrome. *J Am Soc Nephrol.*1999;10:2048-55.
- [4] *Wong RCW, Field K.* MPO-ANCA may produce a combination of P-ANCA and atypical cytoplasmic ANCA indirect immunofluorescent patterns on certain ethanol fixed neutrophil substrates. *J Clin Pathol.* 2001;54:335-6.
- [5] *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;52:2926-35.
- [6] *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;143:632-8.
- [7] *Gaskin G, Ryan JJ, Rees AJ, Pusey CD.* Anti-myeloperoxidase antibodies in vasculitis: relationship to ANCA and clinical diagnosis. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand.* 1990;suppl 19:33.
- [8] *Schnabel A, Hauschild S, Gross WL.* Antineutrophil cytoplasmic antibodies in generalized autoimmune diseases. *Int Arch Allergy Immunol.* 1996;109:201-6.
- [9] *Reid AJC, Harrison BDW, Watts RA, Watkin SW, McCann BG, Scott DGI.* Churg-Strauss syndrome in a district hospital. *Q J Med.* 1998;91:219-29.
- [10] *Hagen EC, Daha MR, Hermans J, Andrassy K, Csernok E, Gaskin G, et al.* Diagnostic value of standardized assays for anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in idiopathic systemic vasculitis. *Kidney Int.* 1998;53:743-53.
- [11] *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).* 1999;78:26-37.
- [12] *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. *Rheumatology.* 2001;40:763-71.
- [13] *Della Rossa A, Baldini C, Tavoni A, Tognetti A, Neglia D, Sambuceti G, et al.* Churg-Strauss syndrome: clinical and serological features of 19 patients from a single Italian centre. *Rheumatology.* 2002;41:1286-94.
- [14] *Keogh KA, Specks U.* Churg-Strauss syndrome: clinical presentation, antineutrophil cytoplasmic antibodies, and leukotriene receptor antagonists. *Am J Med.* 2003;115:284-90.



Anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles (ANCA) associés aux maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) et aux hépatopathies auto-immunes

Catherine JOHANET

Unité d'Immunologie, CHU Saint-Antoine, Paris

Abréviations

ANCA : antineutrophil cytoplasmic antibody
ASCA : anti-*Saccharomyces cerevisiae* antibody
CBP : cirrhose biliaire primitive
CSP : cholangite sclérosante primitive
HAI : hépatite auto-immune
IFI : immunofluorescence indirecte
MC : maladie de Crohn
MICI : maladie inflammatoire chronique de l'intestin
RCH : rectocolite hémorragique
Se : sensibilité
Spe : spécificité
VPP : valeur prédictive positive

Les anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles (ANCA) ont été largement décrits comme associés aux maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI), essentiellement la rectocolite hémorragique, et aux pathologies auto-immunes hépatiques (cholangite sclérosante primitive et hépatite auto-immune). Dans ce contexte, leur recherche est couplée à celle des anticorps anti-*Saccharomyces cerevisiae* (ASCA), principalement associés à la maladie de Crohn.

Ces anticorps, différents des ANCA présents dans les vascularites seront appelés P-ANCA atypiques (P-ANCAa). Nous ne présenterons ici que l'intérêt clinique de ces marqueurs, leurs cibles antigéniques potentielles et leur méthode de détection étant détaillées dans d'autres articles de ce numéro. Il faut remarquer cependant qu'en immunofluorescence indirecte (IFI) la distinction entre les aspects P-ANCA typiques et atypiques n'est pas toujours évidente, et la littérature sur ANCA et MICI ou hépatopathies fait référence soit à des P-ANCA soit à des P-ANCA atypiques.

1. P-ANCA atypiques et MICI

Les MICI sont des affections cryptogéniques ayant en commun une inflammation chronique de l'intestin, évoluant par poussées, avec un pic d'apparition chez l'adulte jeune. Elles sont séparées en deux types : la

rectocolite hémorragique (RCH) et la maladie de Crohn (MC).

1.1. P-ANCA atypiques, marqueur diagnostique de la RCH

La sensibilité (Se) des P-ANCAa dans la RCH varie de 31 à 72 %, leur spécificité (Spe) de 84 à 89 % [1-4]. Ces valeurs sont un peu plus élevées dans les formes pédiatriques (Se : 70 % ; Spe : 86 à 93 %) [2, 5]. Ils sont également présents dans 10 à 29 % des MC [4, 5].

Ces grandes variations dans la sensibilité sont liées d'une part aux différences dans la méthodologie utilisée pour leur détection et d'autre part à des variabilités interindividuelles, ethnique notamment [6, 7].

1.2. P-ANCA atypiques utiles dans le diagnostic différentiel entre RCH et MC

La recherche conjointe des P-ANCAa et des ASCA est plus discriminante et permet d'obtenir une meilleure spécificité (86 à 100 %) et une valeur prédictive positive (VPP) élevée [3, 5, 8]. En effet, deux profils peuvent être définis : l'un, P-ANCAa+ / ASCA-, associé à la RCH (VPP : 82 à 100 %), et l'autre, P-ANCAa- / ASCA+, associé à la MC (VPP : 75 à 96 %) [3-5, 8, 9].

Une étude prospective multicentrique a montré que la présence du profil P-ANCAa+ / ASCA- chez des patients ayant une colite inclassée avait prédit le diagnostic de RCH après un an d'évolution dans 65 % des cas [10]. Les patients séronégatifs P-ANCAa- / ASCA- ont été suivis pendant dix ans. L'absence de P-ANCAa prédit l'absence d'évolution vers une RCH. En effet, 85 % de ces patients séronégatifs conservent un diagnostic de colite indéterminée après dix ans d'évolution [10].

Enfin, le suivi d'une population saine a montré que la présence de P-ANCAa peut précéder le diagnostic de RCH [11].

1.3. P-ANCA atypiques et phénotypes cliniques de RCH

Dans la RCH, la présence de P-ANCAa est associée à un risque accru de formes agressives voire de résistance au traitement, de recours à un geste chirurgical et de pouchite chronique post anastomose iléo-anale [9, 12-14]. Dans l'étude de Fleshner et al [14], le risque cumulé de pouchite chronique était de 56 % pour des taux élevés de P-ANCA vs 20 % en cas d'absence de P-ANCA.

Dans la MC, la présence de P-ANCAa et plus particulièrement du profil P-ANCAa+ / ASCA semble être associée à un phénotype clinique purement colique, sans atteinte iléale et définit un sous-groupe de MC « RCH-like » [7, 10, 15].

1.4. P-ANCA atypiques dans la surveillance et la prise en charge thérapeutique

Les P-ANCAa n'ont actuellement pas d'utilité pour le suivi de l'activité de la maladie. Le titre des anticorps reste relativement constant au cours de la maladie et après colectomie [9].

Quatre études ont testé l'hypothèse d'une association entre les marqueurs P-ANCAa/ASCA et la réponse à l'Infliximab mais ont obtenu des résultats contradictoires [16-19]. L'étude de Ferrante [19], la seule concernant la RCH, montre une association entre le profil P-ANCAa+ / ASCA- et la sévérité de la maladie ainsi qu'une moindre réponse au traitement. Les trois autres études concernent la MC : deux d'entre elles n'ont pas montré d'association significative entre la présence des marqueurs et la réponse à l'Infliximab [17, 18], la troisième a montré une association entre présence de P-ANCA et mauvaise réponse au traitement [16].

1.5. P-ANCA atypiques, marqueur de susceptibilité génétique ?

Plusieurs études familiales déjà anciennes ont abouti à des résultats contradictoires : la fréquence des P-ANCAa chez les apparentés au premier degré de patients atteints de RCH est de 16 à 30 % dans certaines études alors qu'aucune augmentation n'est rapportée dans d'autres études [20]. Actuellement, la présence de P-ANCAa ne semble donc pas être un marqueur de susceptibilité génétique et aucune recommandation de dépistage familial n'est proposée concernant ce marqueur.

2. P-ANCA atypiques et pathologies hépatiques

Les P-ANCAa sont présents dans les hépatites auto-immunes (HAI) de type 1 (HAI-1) et les cholangites sclérosantes primitives (CSP) mais aussi dans la cirrhose biliaire primitive (CBP) (5 à 39 %), les hépatites virales (11 %), et les hépatites alcooliques (7 % [21-25].

2.1. P-ANCA atypiques et HAI-1

Les P-ANCAa sont présents dans 36 à 95 % des HAI-1 [21-25] (les fréquences les plus élevées apparaissent dans le groupe d'HAI-1 avec anticorps antinucléaires). Ces anticorps ont été ajoutés en 1999 dans la grille de score diagnostique des HAI comme critères additionnels [26]. Leur détermination peut aider au diagnostic des hépatites séronégatives pour les autres marqueurs (hépatites cryptogéniques) [23]. La présence de P-ANCAa chez les patients atteints d'HAI-1 pourrait être un facteur de mauvais pronostic (corrélation entre la présence d'anticorps et l'activité nécrotico-inflammatoire histologique) [27] et pourrait également faire évoquer une forme mixte CSP/HAI, particulièrement fréquente chez l'enfant.

2.2. P-ANCA atypiques et CSP

La CSP est caractérisée par une atteinte inflammatoire et fibrosante des voies biliaires intra- et/ou extra-hépatiques. Cette maladie peut survenir de façon isolée mais, dans 50 à 80 % des cas, elle est associée à une MICI (principalement RCH) et partage avec cette dernière une fréquence élevée de P-ANCAa. Ces anticorps sont en effet présents dans 50 à 90 % des CSP [21, 22, 24-28], les fréquences les plus basses étant retrouvées dans les CSP isolées.

3. Conclusion

La recherche des P-ANCAa et plus encore la recherche combinée des P-ANCAa et des ASCA apporte une aide au diagnostic différentiel entre MC et RCH et permet la caractérisation de certaines colites indifférenciées. La recherche d'anticorps anti-antigènes microbiens se développe dans la MC (anticorps anti-*Mycobacterium avium paratuberculosis*, anti-porine OmpC d'*Escherichia coli*, anti-séquence I2 de *Pseudomonas fluorescens*, anti-flagelline CBir1...) : ils permettraient peut-être l'individualisation de nouveaux sous-groupes de MC mais leur intérêt reste à démontrer.

En ce qui concerne les pathologies hépatiques, les P-

ANCAa peuvent être les seuls marqueurs immunologiques présents dans les CSP. Ils ont un intérêt nosologique par le lien qu'ils établissent entre les MICI et la CSP. L'important degré d'homologie de structure entre la protéine bactérienne FtsZ impliquée dans la division cellulaire et la bêta-tubuline récemment proposée comme cible des p-ANCAa dans la CSP est en faveur d'une participation bactérienne à la maladie. Cette protéine FtsZ est abondante dans la microflore intestinale et pourrait expliquer l'association fréquente de la CSP aux maladies inflammatoires chroniques de l'intestin [29].

Références

- [1] Solberg IC, Lygren I, Cvancarova M, Jahnsen J, Stray N, Sauar J, et al. Predictive value of serologic markers in a population-based Norwegian cohort with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2009;15:406-14.
- [2] Reese GE, Constantinides VA, Simillis C, Darzi AW, Orchard TR, Fazio VW, et al. Diagnostic precision of anti-*Saccharomyces cerevisiae* antibodies and perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies in inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol*. 2006;101:2410-22.
- [3] Mokrowiecka A, Daniel P, Slomka M, Majak P, Malecka-Panas E. Clinical utility of serological markers in inflammatory bowel disease. *Hepato-gastroenterology*. 2009;56:162-6.
- [4] Desplat-Jego S, Johanet C, Escande A, Goetz J, Fabien N, Olsson N, et al. Update on anti-*Saccharomyces cerevisiae* antibodies, anti-nuclear associated anti-neutrophil antibodies and antibodies to exocrine pancreas detected by indirect immunofluorescence as biomarkers in chronic inflammatory bowel diseases: results of a multicenter study. *World J Gastroenterol*. 2007;13:2312-8.
- [5] Mainardi E, Villanacci V, Bassotti G, Liserre B, Rossi E, Incardona P, et al. Diagnostic value of serological assays in pediatric inflammatory bowel disorders. *Digestion*. 2007;75:210-4.
- [6] Sandborn WJ, Loftus EV Jr, Colombel JF, Fleming KA, Seibold F, Homburger HA, et al. Evaluation of serologic disease markers in a population-based cohort of patients with ulcerative colitis and Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2001;7:192-201.
- [7] Escande A. Anticorps associés aux maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. *Rev Fr Lab*. 2002 ;341bis :35-40.
- [8] Quinton JF, Sendid B, Reumaux D, Duthilleul P, Cortot A, Grandbastien B, et al. Anti-*Saccharomyces cerevisiae* mannan antibodies combined with antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in inflammatory bowel disease: prevalence and diagnostic role. *Gut*. 1998;42:788-91.
- [9] Papp M, Norman GL, Altorjay I, Lakatos PL. Utility of serological markers in inflammatory bowel diseases: gadget or magic? *World J Gastroenterol*. 2007;13:2028-36.
- [10] Joossens S, Reinisch W, Vermeire S, Sendid B, Poulain D, Peeters M, et al. The value of serologic markers in indeterminate colitis: a prospective follow-up study. *Gastroenterology*. 2002;122:1242-7.
- [11] Israeli E, Grotto I, Gilburd B, Balicer RD, Goldin E, Wiik A, et al. Anti-*Saccharomyces cerevisiae* and antineutrophil cytoplasmic antibodies as predictors of inflammatory bowel disease. *Gut*. 2005;54:1232-6.
- [12] Mokrowiecka A, Gasiorska A, Malecka-Panas E. P-ANCA and ASCA in the diagnosis of different subtypes of inflammatory bowel disease. *Hepato-gastroenterology*. 2007;54:1443-8.
- [13] Sandborn WJ, Landers CJ, Tremaine WJ, Targan SR. Antineutrophil cytoplasmic antibody correlates with chronic pouchitis after ileal pouch-anal anastomosis. *Am J Gastroenterol*. 1995;90:740-7.
- [14] Fleshner PR, Vasiliauskas EA, Kam LY, Fleshner NE, Gaiennie J, Abreu-Martin MT, et al. High level perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibody (P-ANCA) in ulcerative colitis patients before colectomy predicts the development of chronic pouchitis after ileal pouch-anal anastomosis. *Gut*. 2001;49:671-7.
- [15] Vasiliauskas EA, Plevy SE, Landers CJ, Binder SW, Ferguson DM, Yang H, et al. Perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies in patients with Crohn's disease define a clinical subgroup. *Gastroenterology*. 1996;110:1810-9.
- [16] Taylor KD, Plevy SE, Yang H, Landers CJ, Barry MJ, Rotter JJ, et al. ANCA pattern and LTA haplotype relationship to clinical responses to anti-TNF antibody treatment in Crohn's disease. *Gastroenterology*. 2001;120:1347-55.
- [17] Esters N, Vermeire S, Joossens S, Norman M, Louis E, Belaiche J, et al. Serological markers for prediction of response to anti-tumor necrosis factor treatment in Crohn's disease. *Am J Gastroenterol*. 2002;97:1458-62.
- [18] Arnott IDR, McNeill G, Satsangi J. An analysis of factors influencing short-term and sustained response to infliximab treatment for Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 2003;17:1451-7.
- [19] Ferrante M, Vermeire S, Katsanos KH, Noman M, Van Assche G, Schnitzler F, et al. Predictors of early response to infliximab in patients with ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis*. 2007;13:123-8.

[20] *Bossuyt X.* Serologic markers in inflammatory bowel disease. *Clin Chem.* 2006;52:171-81.

[21] *Lindgren S, Nilsson S, Nässberger L, Verbaan H, Wieslander J.* Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in patients with chronic liver diseases: prevalence, antigen specificity and predictive value for diagnosis of autoimmune liver disease. Swedish Internal Medicine Liver Club (SILK). *J Gastroenterol Hepatol.* 2000;15:344-5.

[22] *Rozenendaal C, de Jong MA, van den Berg AP, van Wijk RT, Limburg PC, Kallenberg CGM.* Clinical significance of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) in autoimmune liver diseases. *J Hepatol.* 2000;32:734-41.

[23] *Manns MP, Vogel A.* Autoimmune hepatitis, from mechanisms to therapy. *Hepatology.* 2006;43:S132-44.

[24] *Johanet C, Huguet-Jacquot S, Eyraud V, Ballot E.* Auto-anticorps et pathologies hépatiques. *Rev Fr Lab.* 2006;387:25-33.

[25] *Bogdanos DP, Invernizzi P, Mackay IR, Vergani D.* Autoimmune liver serology: current diagnostic and clinical challenges. *World J Gastroenterol.* 2008;14:3374-87.

[26] *Alvarez F, Berg PA, Bianchi FB, Bianchi L, Burroughs AK, Cancado EL, et al.* International autoimmune hepatitis group report: review of criteria for diagnosis of autoimmune hepatitis. *J Hepatol.* 1999;31:929-38.

[27] *De Riva V, Celadin M, Pittoni M, Plebani M, Paolo A.* What is behind the presence of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in chronic liver disease? *Liver Int.* 2009;29:865-70.

[28] *Terjung B, Worman HJ.* Anti-neutrophil antibodies in primary sclerosing cholangitis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2001;15:629-42.

[29] *Terjung B, Spengler U.* Atypical p-ANCA in PSC and AIH: a hint toward a "leaky gut"? *Clin Rev Allergy Immunol.* 2009;36:40-51.

Anticorps anti-granulocytes dans la rectocolite hémorragique



René-Louis HUMBEL

Laboratoire Luxembourgeois d'Immunopathologie (LLIP), L-4149 Esch-sur-Alzette, Luxembourg

C'est dès 1961 que Calabresi et Thayer [1] ont rapporté l'existence, dans le sérum de malades souffrant de rectocolite hémorragique, d'anticorps antinucléaires ne marquant que le noyau des polynucléaires. Cette découverte sera confirmée 20 ans après par Nielsen et Wiik [2] qui appelèrent ces anticorps GS-ANA (granulocyte specific antinuclear antibodies) pour les distinguer des anticorps antinucléaires classiques qu'ils dénommaient ON-ANA (organ non specific antinuclear antibodies). Ces expériences furent menées sur des étalements de sang humain fixés à l'éthanol. En 1989, Snook et Chapman [3] introduisent l'utilisation des étalements de polynucléaires isolés du sang par gradient de densité. Ils confirmèrent ainsi la spécificité des anticorps pour le noyau des polynucléaires et leur attribuèrent le nom de ANNA (pour anti-neutrophil nuclear antibodies). Ces auteurs observèrent que ces anticorps marquaient également le noyau des granulocytes sur des coupes de foie humain. Une importante confusion va naître entre ces anticorps anti-noyau des polynucléaires avec les ANCA, découverts en 1982 dans les vascularites [4], et qui sont en

réalité des anticorps marquant le cytoplasme des polynucléaires. Une variété de ces ANCA, qui s'avèrent réagir avec la myéloperoxydase des granules cytoplasmiques, se caractérise, sur les polynucléaires fixés à l'éthanol, par un marquage périnucléaire d'où leur appellation de P-ANCA. Ce marquage nucléaire d'un anticorps cytoplasmique s'explique par le fait que l'éthanol entraîne une rupture des granules cytoplasmiques, entraînant la libération de la myéloperoxydase et la fixation de cette dernière sur la chromatine du noyau. Les anticorps de la rectocolite hémorragique marquent également la périphérie des noyaux des polynucléaires fixés à l'éthanol d'où l'appellation de P-ANCA qui leur fut donnée dès 1990 [5]. Cambridge et coll. [6] montrèrent en 1992 que les « P ANCA » associés à la rectocolite hémorragique perdent leur réactivité sur des granulocytes fixés au formol alors que, comme l'avaient montré Falk et Jennette auparavant [7], les P-ANCA anti-myéloperoxydase donnent un aspect C-ANCA sur ces préparations. Saxon en 1990 [5], puis d'autres équipes, utilisèrent comme substrat des polynucléaires fixés au méthanol et observèrent que

le marquage de type P-ANCA produit par les anticorps associés à la rectocolite hémorragique résistait à ce type de fixateur, alors que le marquage P-ANCA donné par les anticorps anti-myéloperoxydase était aboli. En 1991 Lee et coll. [8] démontrèrent que le marquage du noyau des granulocytes occasionné par des anticorps antinucléaires classiques résistait à la fixation par le méthanol (tableau I).

Tableau I - Aspect en immunofluorescence des différents types d'anticorps anti-granulocytes en fonction du type de fixation des polynucléaires

| | Mode de fixation des granulocytes | | |
|--------------------------------|-----------------------------------|-----------------------|-----------------------|
| | Ethanol | Formol | Methanol |
| C-ANCA-PR3 | Cytoplasme granulaire | Cytoplasme granulaire | Cytoplasme granulaire |
| C-ANCA-MPO | Cytoplasme granulaire | Cytoplasme granulaire | Négatif |
| P-ANCA-MPO | Périnucléaire / nucléaire | Cytoplasme granulaire | Négatif |
| Ac anti-granulocytes de la RCH | Périnucléaire | Négatif | Périnucléaire |

RCH : rectocolite hémorragique

Ces constatations sont donc en faveur de la nature antinucléaire des anticorps anti-granulocytes de la rectocolite hémorragique. Plusieurs dénominations vont être introduites pour désigner ces anticorps (tableau II) : xANCA par Hauschild et al en 1993 [9]

Tableau II - Différentes dénominations des anticorps anti-granulocytes de la rectocolite hémorragique

| | |
|----------------|---------------------|
| GS-ANA | Nielsen, 1983 [2] |
| P-ANCA | Falk, 1988 [7] |
| X-ANCA | Hauschild, 1993 [9] |
| UC-ANCA | Billing, 1995 [10] |
| NANA | Billing, 1995 [10] |
| a-ANCA | Savige, 1999 [11] |
| atypical pANCA | Terjung, 2000 [17] |
| p-ANNA | Terjung, 2001 [13] |

pour indiquer que l'antigène cible n'est pas connu, UC pANCA (ulcerative colitis pANCA) par Billing en 1995 [10], a ANCA (atypical ANCA) par Savige en 1999 [11], non à cause de l'aspect microscopique mais parce que les pANCA ne sont pas typiquement anti-MPO. En 1998 Terjung les désigne par le terme de p-ANCA atypiques en raison de l'aspect de mar-

quage différent (inhomogène et plus restreint) du noyau [12], puis en 2001 elle propose l'appellation p-ANNA (perinuclear antineutrophil nuclear antibodies) [13], terme qui définit probablement le mieux les anticorps de la rectocolite hémorragique.

Parallèlement à la recherche des antigènes cibles des ANCA classiques des vascularites, de nombreux ELISA ont été utilisés pour tenter de caractériser les cibles des anticorps de la rectocolite hémorragique [14]. Les résultats ont été très décevants, avec des sensibilités allant de 0 à 57 % pour certains antigènes, et très variables selon les auteurs. Ont été testées les protéines présentes dans les granules des polynucléaires (en-dehors de la PR3 et de la MPO : - glucuronidase, cathepsine G, élastase, BPI et lactoferrine) et dans le cytoplasme (α -énolase et catalase) (tableau III). Tentée par la localisation nucléaire des antigènes, une équipe japonaise a cru pouvoir démontrer une réactivité avec les protéines associées à la chromatine, comme les protéines non histones HMG1 et HMG2 [15]. Mais les résultats n'ont pas été confirmés par d'autres. Une réaction avec l'histone H1 a été évoquée mais n'a pas été démontrée.

Tableau III - Fréquence et spécificité des anticorps anti-granulocytes dans la rectocolite hémorragique (résultats rapportés entre 1992 et 1998)

| Spécificité | Fréquence (%) |
|------------------------|---------------|
| β -glucuronidase | 0-57 |
| Lysozyme | 15-53 |
| Lactoferrine | 3-50 |
| BPI | 5-23 |
| Cathepsine G | 0-38 |
| Elastase | 3-18 |
| Catalase | 26 |
| α -énolase | 18 |

BPI : bactericidal/permeability increasing protein

Une autre étape importante dans l'étude des anticorps anti-polynucléaires de la rectocolite hémorragique est la mise en évidence par Billing en 1995 [10], grâce à la microscopie confocale, de la fixation des anticorps sur la face interne de la membrane nucléaire et en particulier sur l'hétérochromatine condensée en périphérie du noyau, expliquant ainsi l'aspect de P-ANCA. La même équipe soumet les noyaux des polynucléaires à une digestion par la DNase et observe que ce traitement abolit la réaction avec les anticorps. Vidrich appelle alors ces anticorps

« DNase sensitive pANCA » [16]. Ceci suggère que l'ADN est un partenaire essentiel de l'antigène cible reconnu par les anticorps de la rectocolite hémorragique. Ce traitement n'altère pas la réactivité avec les anticorps anti-PR3 et anti-MPO. L'identification de l'antigène cible débute en 1998 par les travaux de Birgit Terjung qui isole une protéine de 50 kD localisée au niveau de la lamine nucléaire et qui réagit avec les anticorps [17]. En 2008, cette protéine a été identifiée comme l'isoenzyme 5 de la α -tubuline (TBB5) qui est associée à la membrane nucléaire et qui est reconnue par 97 % des patients atteints de cholangite sclérosante, maladie hépatique associée à la rectocolite hémorragique [18]. Cette isoforme de la tubuline partage une homologie structurale avec la protéine FtsZ, une protéine bactérienne qui joue un rôle essentiel dans la division cellulaire de bactéries. Les anticorps anti-TBB5 reconnaissent également la protéine FtsZ recombinante et ils peuvent être adsorbés par la protéine bactérienne [19]. D'autre part, un anticorps monoclonal anti-TBB5 donne en immunofluorescence sur granulocytes fixés à l'éthanol un marquage de type pANCA.

Une autre approche, plus récente, réalisée par Teegen et son équipe [20], a consisté à éliminer du noyau les protéines, mais en respectant l'ADN, par une solution concentrée de sulfate de magnésium. La préparation est alors incubée avec une solution de lactoferrine, une protéine ayant une forte affinité pour l'ADN. Cette équipe allemande a montré que les sérums P-ANCA de rectocolite hémorragique réagissaient avec le complexe lactoferrine-ADN ainsi reconstitué sur le noyau des granulocytes. Les auteurs rapportent une sensibilité de 70 % pour la rectocolite hémorragique. A l'heure actuelle ces résultats n'ont pas encore été confirmés par d'autres équipes.

Les anticorps anti-noyau des granulocytes constituent depuis 1961 les marqueurs sérologiques de la rectocolite hémorragique. Une méta-analyse de 60 études publiées, portant sur 3841 rectocolites hémorragiques et 4019 maladies de Crohn, leur attribue une sensibilité pour la rectocolite hémorragique de 55,3 % et une spécificité de 88,5 % [21]. Associés aux ASCA (anticorps anti-Saccharomyces cerevisiae) ils représentent une étape importante dans le cadre du diagnostic différentiel entre rectocolite hémorragique et maladie de Crohn. Les quelques cas de maladie de Crohn associant des anticorps anti-granulocytes semblent correspondre à un phénotype particulier clinique purement colique sans atteinte iléale [22].

Références

- [1] Calabresi P, Thayer WR Jr, Spiro HM. Demonstration of circulating antinuclear globulins in ulcerative colitis. *J Clin Invest.* 1961;40:2126-33.
- [2] Nielsen H, Wiik A, Elmgreen J. Granulocyte specific antinuclear antibodies in ulcerative colitis. Aid in differential diagnosis of inflammatory bowel disease. *Acta Pathol Microbiol Immunol Scand C.* 1983;91:23-6.
- [3] Snook JA, Chapman RW, Fleming K, Jewell DP. Anti-neutrophil nuclear antibody in ulcerative colitis, Crohn's disease and primary sclerosing cholangitis. *Clin Exp Immunol.* 1989;76:30-3.
- [4] Davies DJ, Moran JE, Niall NF, Ryan GB. Segmental necrotizing glomerulonephritis with anti-neutrophil antibody: possible arbovirus aetiology? *BMJ.* 1982;285:606.
- [5] Saxon A, Shanahan F, Landers C, Ganz T, Targan S. A distinct subset of antineutrophil cytoplasmic antibodies is associated with inflammatory bowel disease. *J Allergy Clin Immunol.* 1990;86:202-10.
- [6] Cambridge G, Rampton DS, Stevens TRJ, McCarthy DA, Kamm M, Leaker B. Anti-neutrophil antibodies in inflammatory bowel disease: prevalence and diagnostic role. *Gut.* 1992;33:668-74.
- [7] Falk RJ, Jennette JC. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies with specificity for myeloperoxidase in patients with systemic vasculitis and idiopathic necrotizing and crescentic glomerulonephritis. *N Engl J Med.* 1988;318:1651-7.
- [8] Lee SS, Lawton JW, Chak N. Distinction between anti-nuclear antibodies and P-ANCA. *J Clin Pathol.* 1991; 44:962-3.
- [9] Hauschild S, Schmitt WH, Csernok E, Flesch BK, Rautmann A, Gross WL. ANCA in systemic vasculitides, collagen vascular diseases, rheumatic disorders and inflammatory bowel diseases. *Adv Exp Med Biol.* 1993;336:245-51.
- [10] Billing P, Tahir S, Calfin B, Gagne G, Cobb L, Targan S, et al. Nuclear localization of the antigen detected by ulcerative colitis-associated perinuclear anti-neutrophil cytoplasmic antibodies. *Am J Pathol.* 1995;147:979-85.
- [11] Savige J, Gillis E, Benson D, Davies V, Esnault RJ, Falk RJ, et al. International consensus statement on testing and reporting of antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA). *Am J Clin Pathol.* 1999;111:507-13.
- [12] Terjung B, Herzog V, Worman HJ, Gestmann I, Bauer C, Sauerbruch T, et al. Atypical antineutrophil cytoplasmic antibodies with perinuclear fluores-

cence in chronic inflammatory bowel diseases and hepatobiliary disorders colocalize with nuclear lamina proteins. *Hepatology*. 1998;28:238-40.

[13] *Terjung B, Worman HJ, Herzog V, Sauerbruch T, Spengler U*. Differentiation of antineutrophil nuclear antibodies in inflammatory bowel and autoimmune liver diseases from antineutrophil cytoplasmic antibodies (p-ANCA) using immunofluorescence microscopy. *Clin Exp Immunol*. 2001;126:37-46.

[14] *Bossuyt X*. Serologic markers in inflammatory bowel disease. *Clin Chem*. 2006;52:171-81.

[15] *Sobajima J, Ozaki S, Uesugi H, Osakada F, Inoue M, Fukuda Y, et al*. High mobility group (HMG) non-histone chromosomal proteins HMG1 and HMG2 are significant target antigens of perinuclear anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in autoimmune hepatitis. *Gut*. 1999;44:867-73.

[16] *Vidrich A, Lee J, James E, Cobb L, Targan S*. Segregation of pANCA antigenic recognition by DNase treatment of neutrophils: ulcerative colitis, type I autoimmune hepatitis and primary biliary sclerosing cholangitis. *J Clin Immunol*. 1995;15:293-8.

[17] *Terjung B, Spengler V, Sauerbruch T, Worman HJ*. "Atypical p-ANCA" in IBD and hepatobiliary disorders react with a 50 kD nuclear envelope protein of neutrophils and myeloid cell lines. *Gastroenterology*. 2000;119:310-22.

[18] *Terjung B, Muennich M, Gottwein J, Soehne J, Worman HJ, Sauerbruch T, et al*. Identification of myeloid-cell specific tubulin-beta isotope 5 as target antigen of antineutrophil cytoplasmic antibodies in autoimmune liver disorders. *Hepatology*. 2005;42 suppl 1:A229.

[19] *Terjung B, Söhne J, Lechtenberg B, Gottwein J, Muennich J, Herzog V, et al*. p-ANCAs in autoimmune liver disorders recognize human β -tubulin isotype 5 and cross-react with microbial FtsZ. *Gut*. 2010;59:808-16.

[20] *Teegen B, Niemann S, Probst C, Schlumberger W, Stöcker W, Komorowski L*. DNA-bound lactoferrin is the major target for antineutrophil perinuclear cytoplasmic antibodies in ulcerative colitis. *Ann NY Acad Sci*. 2009;1173:161-5.

[21] *Reese GE, Constantinides VA, Simillis C, Darzi AW, Orchard TR, Fazio VW, et al*. Diagnostic precision of anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies and perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies in inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol*. 2006;101:2410-22.

[22] *Vasiliauskas EA, Plevy SE, Landers CJ, Binder SW, Ferguson DM, Yang H, et al*. Perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies in patients with Crohn's disease define a clinical subgroup. *Gastroenterology*. 1996;110:1810-9.

Les anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles (ANCA) en dehors des vascularites, des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin et des hépatopathies



Daniela LAKOMY, Nils-Olivier OLSSON

Laboratoire d'Immunologie, Plateau Technique de Biologie, Centre Hospitalier Universitaire, BP 37013, 21070 DIJON Cedex

Abréviations

ANCA : antineutrophil cytoplasmic antibody
BPI : bactericidal/permeability increasing protein
FDA : Food & Drug Administration
MPO : myéloperoxydase
PR3 : protéinase 3
PTU : propylthio-uracile
TNF α : tumor necrosis factor alpha

Comme indiqué dans les chapitres précédents, les anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles (ANCA) sont devenus des marqueurs classiques de certaines vascularites et sont rencontrés dans les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin et certaines atteintes hépatiques. Mais leur présence a également été rapportée dans d'autres situations pathologiques, en particulier au cours de certains traitements médicamenteux, et au cours d'infections. Leur mise en évidence peut alors faire évoquer à tort l'existence de l'une des vascularites systémiques précédemment décrites. Ces ANCA peuvent exercer le même rôle pathogène que dans les vascularites systémiques idiopathiques. Cependant, dans ces situations, ils ne sont pas toujours associés à des lésions de vascularites.

1. ANCA et médicaments

De nombreux médicaments, appartenant à presque toutes les classes pharmacologiques, ont été incriminés dans l'apparition d'ANCA, eux-mêmes souvent associés à des vascularites (tableau I). Les plus fréquemment cités sont des molécules utilisées dans les traitements antithyroïdiens, en particulier le propylthio-uracile (PTU) avec plus d'une centaine de cas décrits [1]. Mais des antibiotiques comme la minocycline, des psychotropes comme la clozapine, des anti-inflammatoires comme la sulfasalazine, la D-Pénicillamine ou des anti-TNF α peuvent également

Tableau I : principaux médicaments incriminés dans l'apparition d'ANCA

| Médicament | Références |
|--------------------|------------|
| Adalimumab | 44-46 |
| Allopurinol | 47 |
| Atorvastatine | 48 |
| Benzylthio-uracile | 49-51 |
| Carbimazole | 52-54 |
| Céfotaxime | 55 |
| Cimétidine | 56, 57 |
| Ciprofloxacine | 58 |
| Etanercept | 44, 46 |
| Hydralazine* | 59-62 |
| Indométhacine | 63 |
| Infliximab | 44, 46, 64 |
| Levamisole | 65-67 |
| Méthimazole* | 68, 69 |
| Minocycline | 5, 70-72 |
| Oméprazole | 73 |
| Pantoprazole | 74 |
| D-Pénicillamine | 2, 67, 75 |
| Phénytoïne | 67, 76 |
| Pimagédine* | 67 |
| Propylthio-uracile | 53, 77-84 |
| Sulfasalazine | 85, 86 |
| Thioridazine* | 87 |
| L-Tryptophane* | 88 |

*ces molécules ne sont pas/plus commercialisées en France

induire des vascularites et des ANCA.

Plusieurs éléments doivent être recherchés pour pouvoir évoquer la responsabilité d'un médicament dans l'apparition d'un tableau clinique ou d'une ano-

malie biologique. Il s'agit 1) de la chronologie entre la prise médicamenteuse et l'anomalie constatée, 2) de la disparition de l'anomalie (dans un délai variable) après l'arrêt du médicament, et 3) de la réapparition de l'anomalie en cas de réintroduction du même médicament. Dans le cas des ANCA et des vascularites associées, force est de constater que dans de nombreuses études ces éléments ne sont pas clairement établis. D'une part l'absence d'ANCA avant l'introduction du médicament est rarement documentée. D'autre part leur persistance, comme celle de la vascularite associée, est parfois constatée longtemps après l'arrêt du traitement [2]. De plus à l'arrêt du traitement incriminé un relais par des corticoïdes ou autres immunosuppresseurs est souvent mis en place pour faire régresser les lésions de vascularite, et il est donc difficile de déterminer si la disparition des ANCA est due à l'arrêt du médicament ou à ce traitement immunosuppresseur. Enfin, pour des raisons évidentes, la réintroduction du médicament incriminé est très rarement tentée. Si d'assez nombreuses observations d'ANCA et de vascularites chez des sujets recevant certains médicaments ont été publiées, la relation de cause à effet entre le traitement et ce tableau clinicobiologique est rarement démontrée.

Les ANCA mis en évidence au cours de ces vascularites induites par les médicaments donnent le plus souvent un marquage de type P-ANCA ou P-ANCA atypique en immunofluorescence indirecte, et reconnaissent les mêmes antigènes que les ANCA des vascularites systémiques idiopathiques : la myéloperoxydase (MPO) surtout, mais aussi l'élastase, la cathepsine G, la bactericidal/permeability increasing protein (BPI), le lysozyme ou la lactoferrine. Certains sérums reconnaissent plusieurs de ces antigènes. Quelques cas d'anticorps donnant un aspect C-ANCA et reconnaissant la protéinase 3 (PR3) ont également été rapportés. La caractérisation de l'aspect de fluorescence et l'identification des antigènes reconnus par ces ANCA ne permettent donc pas d'affirmer ou d'infirmer le caractère iatrogène des vascularites qui leur sont associées. En revanche dans ces vascularites induites les ANCA reconnaissent souvent plusieurs cibles antigéniques, ce qui est rarement le cas dans les vascularites idiopathiques. Cette polyspécificité peut donc aider à différencier ces deux types de vascularites [3]. De plus d'autres autoanticorps (antinucléaires, anti-histones, anti-cardiolipides) sont volontiers retrouvés dans les syndromes induits par les antithyroïdiens alors qu'ils sont rares dans les vascularites systémiques idiopathiques [4].

Les vascularites associées à ces ANCA induits par un médicament sont en général moins sévères que les vascularites systémiques idiopathiques. Elles tou-

chent le plus souvent la peau, avec des tableaux de purpura, de livedo, de nécroses cutanées. D'autres atteintes, isolées ou associées à l'atteinte cutanée, ont été décrites en particulier au niveau des reins (glomérulonéphrites) ou des poumons (hémorragies pulmonaires, infiltrats). Ces vascularites peuvent s'intégrer dans un tableau de lupus induit : c'est le cas pour les lupus induits par la minocycline [5].

Les mécanismes pathogènes des ANCA dans ces vascularites secondaires sont probablement les mêmes que dans les vascularites systémiques idiopathiques. En revanche les mécanismes par lesquels des traitements médicamenteux induisent la production des ANCA chez certains patients sont largement spéculatifs. De plus il est difficile de faire la part du traitement et celle de la maladie sous-jacente dans cette production d'anticorps. Ainsi, dans une série espagnole, des ANCA ont été mis en évidence chez 67 % des patients atteints de maladie de Basedow et encore non traités [6]. Cette fréquence très élevée doit cependant être considérée avec prudence, d'autres auteurs n'ayant pas retrouvé d'ANCA chez des patients avant traitement de leur maladie de Basedow [7, 8].

L'apparition d'ANCA après la mise en place d'un traitement médicamenteux ne s'accompagne pas toujours de signes de vascularite. Ainsi dans une étude prospective japonaise portant sur soixante-treize patients atteints de maladie de Basedow et qui n'avaient pas d'ANCA sériques au moment du diagnostic, le traitement par PTU n'a fait apparaître ces anticorps que chez trois d'entre eux et un seul a développé une vascularite [8].

Mentionnons enfin le cas particulier des syndromes de Churg et Strauss apparus chez des asthmatiques recevant des antagonistes de leucotriènes (zafirlukast, montelukast et pranlukast). La responsabilité de ces molécules n'a pas été formellement démontrée et, après quelques années de controverse, la FDA a conclu à l'innocuité de ces molécules [9].

2. ANCA et infections

La présence d'ANCA a été rapportée au cours ou au décours d'un certain nombre d'infections. Les agents infectieux les plus fréquemment en cause sont les mycobactéries, mais des ANCA ont été décrits au cours d'infections par d'autres bactéries, des virus, des champignons, des parasites (tableau II). La fréquence des ANCA est très variable selon l'agent infectieux considéré. Dans une étude taïwanaise, c'est plus de la moitié des sujets infectés par le virus de l'hépatite C qui avaient des ANCA, essentiellement de spécificité anti-PR3 [10].

Tableau II : principales infections incriminées dans l'apparition d'ANCA sériques

| Maladie infectieuse | Références |
|--|--------------------|
| Amibiase | 89 |
| Aspergillose | 90 |
| Endocardite bactérienne (rickettsie, <i>S. aureus</i> ou streptocoque) | 12, 13, 42, 91, 92 |
| Hépatite C | 10 |
| Histoplasmose | 93 |
| Lèpre | 94 |
| Leptospirose | 95 |
| Malaria | 96 |
| Parvovirus B19 | 97 |
| Pseudomonas | 98 |
| Sporotrichiose pulmonaire | 99 |
| Tuberculose | 11 |
| VIH | 100 |

Les ANCA associés à ces infections peuvent donner un aspect cytoplasmique ou périmucléaire en IFI. De nombreuses spécificités différentes peuvent être retrouvées (BPI, cathepsine G, élastase), mais ils sont assez souvent de spécificité anti-PR3 ou anti-MPO et peuvent faire évoquer l'existence de l'une des vascularites systémiques à ANCA précédemment décrites. De plus certaines infections pulmonaires, en particulier la tuberculose, peuvent donner une symptomatologie compatible avec une granulomatose de Wegener. La mise en évidence de C-ANCA de spécificité anti-PR3 va renforcer cette suspicion et peut faire errer le diagnostic et retarder la mise en place du traitement adapté [11]. Ont également été rapportés des cas d'endocardite bactérienne associés à des C-ANCA anti-PR3 chez des patients qui présentaient des lésions de vascularite leucocytoclasique ou de glomérulonéphrite [12, 13].

Le rôle possible d'infections bactériennes dans le développement des classiques vascularites systémiques à ANCA a été évoqué (cf. article Physiopathologie). Selon certaines études, la majorité des patients atteints de maladie de Wegener sont des porteurs chroniques de *Staphylococcus aureus*, et chez ces patients les récurrences sont beaucoup plus fréquentes que chez les non porteurs [14]. Les superantigènes associés aux germes pathogènes pourraient être responsables du déclenchement des poussées de vascularite [15].

3. ANCA et facteurs d'environnement

Différents facteurs d'environnement, souvent liés à un contexte professionnel, ont été incriminés dans la production d'ANCA. L'association la mieux documentée concerne la silice. En 1990 Chevailler et al ont rapporté la présence d'ANCA de spécificité anti-MPO chez trois patients travaillant dans des ardoisiers : ils étaient atteints de silicose pulmonaire et porteurs d'une glomérulonéphrite rapidement progressive [16]. Cette association entre glomérulonéphrite rapidement progressive et exposition à la silice a été bientôt confirmée par une étude cas-témoin italienne [17]. Par la suite plusieurs études ont établi un lien entre l'exposition à la silice dans différents contextes professionnels et le développement de vascularites à ANCA, qu'il s'agisse de glomérulonéphrite rapidement progressive, de granulomatose de Wegener, de maladie de Churg et Strauss ou de micropolyangéite [18-22]. Dans une étude cas-contrôle, l'exposition à la silice a été retrouvée chez 46 % des patients porteurs d'une vascularite à ANCA [19]. Le rôle exact de la silice dans le développement de ces vascularites à ANCA n'est pas élucidé. Expérimentalement, l'inhalation de particules de silice entraîne une infiltration des alvéoles pulmonaires par des leucocytes et la formation de granulomes, et induit l'apoptose de ces deux populations de cellules [23]. La silice a des propriétés d'adjuvant : en activant des lymphocytes T et B, des monocytes et des macrophages, la silice pourrait induire des réactions auto-immunes chez des sujets génétiquement prédisposés [24]. D'autres manifestations auto-immunes, avec des anticorps antinucléaires et parfois d'authentiques connectivites, ont également été décrites chez des patients professionnellement exposés à la silice [25, 26].

La responsabilité d'autres polluants ou facteurs environnementaux dans le développement de vascularites à ANCA a été évoquée : les travaux agricoles, en particulier l'élevage [21], l'exposition aux solvants [21], aux fumées [27], aux pesticides [27]. Les ANCA, avec ou sans vascularite associée, semblent également plus fréquents chez les sujets exposés à l'amiante [22, 28].

4. ANCA et néoplasies

Quelques cas d'ANCA associés à une affection néoplasique ont été rapportés (tableau III). Ces observations doivent être considérées avec prudence. D'une part elles sont très peu nombreuses et elles ne découlent pas de comparaisons systématiques avec des populations témoins. D'autre part certains patients présentaient également une maladie auto-

Tableau III : ANCA et néoplasies

| Néoplasie | Références |
|-------------------------|------------|
| Carcinome bronchique | 101 |
| Gammapathie monoclonale | 29 |
| Leucémie | 30 |

immune [29], ou souffraient d'une infection au moment de la mise en évidence d'ANCA dans leur sérum [30]. La part de responsabilité de ces affections intercurrentes, des traitements reçus, et de la néoplasie dans la production d'ANCA chez ces patients reste donc incertaine.

5. Autres associations

L'usage de la cocaïne par inspiration peut entraîner des lésions destructrices de la cloison nasale et du palais. Des ANCA ont été mis en évidence dans le sérum d'utilisateurs de cocaïne présentant de telles lésions [31-33]. Initialement estimée à 28 % [31], leur fréquence a été réévaluée à 84 % en utilisant une combinaison de techniques d'immunofluorescence et ELISA [34]. Ces ANCA donnent le plus souvent un aspect P-ANCA en immunofluorescence, mais parfois il s'agit de C-ANCA, et l'aspect de fluorescence peut varier au cours du temps chez un même patient [34]. La cible préférentielle de ces ANCA est l'élastase [31, 33, 34]. Cette spécificité particulière constitue une aide précieuse pour le diagnostic différentiel entre syndrome induit par la cocaïne et granulomatose de Wegener dans laquelle les anticorps anti-élastase sont exceptionnels [34]. En effet les lésions ostéocartilagineuses induites par la cocaïne ressemblent à celles observées dans la maladie de Wegener. Dans de rares cas la présence d'Ac anti-PR3 rend le diagnostic différentiel plus délicat [35], et au moins deux cas de maladie de Wegener authentifiée par des biopsies ont été décrits chez des cocaïnomanes [34, 36]. Chez ces patients un rôle déclenchant de la cocaïne sur la maladie de Wegener a été suggéré [36]. Les infections nasales jouent probablement aussi un rôle dans la production d'ANCA chez les consommateurs de cocaïne : la plupart d'entre eux sont porteurs chroniques de *Staphylococcus aureus* [31]. Enfin le terme de pseudo-vascularite a été utilisé pour désigner chez un cocaïnomanne un tableau associant des ANCA et des lésions évocatrices de vascularite mais sans signes histologiques caractéristiques [37].

Une plus forte incidence de vascularites à ANCA chez les sujets allergiques a été rapportée par quelques équipes. Dans une étude anglaise, une association significative entre maladie de Wegener ou maladie de Churg et Strauss et des antécédents familiaux

d'atopie ou d'autres formes d'allergie avait été observée [38]. Dans une autre étude anglaise plus récente, une association entre maladie de Wegener et allergie médicamenteuse a été rapportée ; cette association n'était pas retrouvée pour les autres vascularites à ANCA ni pour les autres types de manifestations allergiques [21]. Des cytokines de type Th2 ont été incriminées dans l'initiation des vascularites à ANCA, ce qui pourrait constituer un lien avec l'atopie [39]. Cependant les études épidémiologiques qui ont conclu à ces associations sont très peu nombreuses et il n'est pas exclu qu'elles souffrent de biais de recrutement, en particulier pour les groupes contrôles.

Enfin la présence d'ANCA a été rapportée dans de nombreuses autres affections, en particulier d'autres vascularites et différentes maladies auto-immunes

Tableau IV : autres maladies dans lesquelles la présence d'ANCA a été rapportée

| Maladie | Références |
|--|--------------|
| Arthrite juvénile idiopathique | 102 |
| Arthrite réactionnelle | 103 |
| Connectivite mixte | 104, 105 |
| Dermatomyosite/polymyosite | 104 |
| Erythema elevatum diutinum | 42, 43 |
| Fibrose rétropéritonéale | 106 |
| Glomérulonéphrite post-streptococcique | 107 |
| Hémosidérose pulmonaire idiopathique | 108 |
| Lupus érythémateux disséminé | 40, 104, 105 |
| Maladie de Behçet | 109 |
| Maladie de Castelman | 42, 110 |
| Maladie de Horton | 111 |
| Maladie de Kawasaki | 112 |
| Maladie de Takayasu | 113 |
| Mucoviscidose | 105, 114 |
| Néphropathie membraneuse | 115 |
| Polyarthrite rhumatoïde | 104, 105 |
| Polychondrite atrophiant | 116 |
| Purpura d'Henoch-Schönlein | 41, 42 |
| Pyoderma gangrenosum | 43 |
| Sarcoïdose | 114 |
| Sclérodémie systémique | 104, 117 |
| Spondylarthrite ankylosante | 103 |
| Syndrome de Felty | 118 |
| Syndrome de Gougerot-Sjögren | 42, 104, 119 |
| Syndrome de Sweet | 43, 120 |
| Syndrome des anti-phospholipides | 104 |
| Vascularite cryoglobulinémique | 121 |
| Vascularites cutanées | 42 |

systémiques (tableau IV). La fréquence des ANCA dans ces affections est difficile à préciser : d'une part les publications portent souvent sur de petits nombres de patients, d'autre part les associations entre plusieurs maladies auto-immunes ou vascularites sont fréquentes, ainsi que les syndromes de chevauchement. Le plus souvent les ANCA retrouvés sont des P-ANCA typiques ou atypiques, parfois de spécificité anti-MPO, les C-ANCA anti-PR3 étant très rares. Dans une étude portant sur 120 patients lupiques, des ANCA ont été observés dans 25 % des sérums : tous donnaient un aspect P-ANCA, les cibles reconnues étaient la lactoferrine, l'élastase ou le lysozyme, et leur présence n'était pas corrélée à l'existence d'une vascularite [40]. Les ANCA mis en évidence sont parfois de classe IgA, avec ou sans IgG : c'est le cas en particulier pour certaines affections cutanées [41-43].

6. Conclusion

En dehors des classiques vascularites systémiques idiopathiques à ANCA et des affections digestives évoquées dans les chapitres précédents, de nombreuses situations pathologiques et différents facteurs d'environnement peuvent être à l'origine d'ANCA sériques. Il importe donc de ne pas méconnaître ces sources de « faux positifs » : la présence d'ANCA n'est pas synonyme de vascularite systémique, même s'ils donnent un aspect typique en immunofluorescence, et même s'ils sont de spécificité anti-MPO ou anti-PR3.

Références

- [1] Gao Y, Zhao MH. Review article: drug-induced anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *Nephrology*. 2009;14:33-41.
- [2] Locke IC, Worrall JG, Leaker B, Black CM, Cambridge G. Autoantibodies to myeloperoxydase in systemic sclerosis. *J Rheumatol*. 1997;24:86-9.
- [3] Wiik A. Methods for the detection of antineutrophil cytoplasmic antibodies. Recommendations for clinical use of ANCA serology and laboratory efforts to optimise the informative value of ANCA tests results. Springer Semin Immunopathol. 2001;23:217-29.
- [4] Bonaci-Nikolic B, Nikolic MM, Andrejevic S, Zoric S, Bukilica M. Antineutrophil cytoplasmic antibody (ANCA)-associated autoimmune diseases induced by antithyroid drugs: comparison with idiopathic ANCA vasculitides. *Arthritis Res Ther*. 2005;7:R1075-81.
- [5] Lawson TM, Amos N, Bulgen D, Williams BD. Minocycline-induced lupus: clinical features and response to rechallenge. *Rheumatology*. 2001;40:329-35.
- [6] Guma M, Salinas I, Reverter JL, Roca J, Valls-Roc M, Juan M, et al. Frequency of antineutrophil cytoplasmic antibody in Graves' disease patients treated with methimazole. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003;88:2141-6.
- [7] Sera N, Ashizawa K, Ando T, Abe Y, Ide A, Usa T, et al. Treatment with propylthiouracil is associated with appearance of antineutrophil cytoplasmic antibodies in some patients with Graves' disease. *Thyroid*. 2000;10:595-9.
- [8] Noh JY, Asari T, Hamada N, Makino F, Ishikawa N, Abe Y, et al. Frequency of appearance of myeloperoxidase-antineutrophil cytoplasmic antibody (MPO-ANCA) in Graves' disease patients treated with propylthiouracil and the relationship between MPO-ANCA and clinical manifestations. *Clin Endocrinol*. 2001;54:651-4.
- [9] Mor A, Pillinger MH, Wortmann RL, Mitnick HJ. Drug-induced arthritic and connective tissue disorders. *Semin Arthritis Rheum*. 2008;38:249-64.
- [10] Wu YY, Hsu TC, Chen TY, Liu TC, Liu GY, Lee YJ, et al. Proteinase 3 and dihydrolipoamide dehydrogenase (E3) are major autoantigens in hepatitis C virus (HCV) infection. *Clin Exp Immunol*. 2002;128:347-52.
- [11] Flores-Suárez LF, Cabiedes J, Villa AR, van der Woude FJ, Alcocer-Varela J. Prevalence of antineutrophil cytoplasmic autoantibodies in patients with tuberculosis. *Rheumatology*. 2003;42:223-9.
- [12] Subra JF, Michelet C, Laporte J, Carrere F, Reboul P, Cartier F, et al. The presence of cytoplasmic antineutrophil cytoplasmic antibodies (C-ANCA) in the course of subacute bacterial endocarditis with glomerular involvement, coincidence or association? *Clin Nephrol*. 1998;49:15-8.
- [13] Choi HK, Lamprecht P, Niles JL, Gross WL, Merkel PA. Subacute bacterial endocarditis with positive cytoplasmic antineutrophil cytoplasmic antibodies and anti-proteinase 3 antibodies. *Arthritis Rheum*. 2000;43:226-31.
- [14] Stegeman CA, Cohen Tervaert JW, Sluiter WJ, Manson WL, de Jong PE, Kallenberg CGM. Association of chronic nasal carriage of *Staphylococcus aureus* and higher relapse rates in Wegener granulomatosis. *Ann Intern Med*. 1994;120:12-7.
- [15] Cohen Tervaert JW, Popa ER, Bos NA. The role of superantigens in vasculitis. *Curr Opin Rheumatol*. 1999;11:24-33.
- [16] Chevaillier A, Carrere F, Renier G, Hurez D,

- Subra JF, Reboul P, et al.* Silicon nephropathy and myeloperoxidase antibodies. *Ann Rheum Dis.* 1994;93:781-2.
- [17] *Gregorini G, Ferioli A, Donato F, Tira P, Morassi L, Tardanico R, et al.* Association between silica exposure and necrotizing crescentic glomerulonephritis with p-ANCA and anti-MPO antibodies: a hospital-based case-control study. *Adv Exp Med Biol.* 1993;336:435-40.
- [18] *Nuyts GD, Van Vlem E, De Vos A, Daelemans RA, Rorive G, Elseviers MM, et al.* Wegener granulomatosis is associated to exposure to silicon compounds: a case-control study. *Nephrol Dial Transplant.* 1995;10:1162-5.
- [19] *Hogan SL, Satterly KK, Dooley MA, Nachman PH, Jennette JC, Falk RJ.* Silica exposure in anti-neutrophil cytoplasmic autoantibody-associated glomerulonephritis and lupus nephritis. *J Am Soc Nephrol.* 2001;12:134-42.
- [20] *Subra JF, Renier G, Reboul P, Tollis F, Boivinet R, Schwartz P, et al.* Lymphopenia in occupational pulmonary silicosis with or without autoimmune disease. *Clin Exp Immunol.* 2001;16:540-4.
- [21] *Lane SE, Watts RA, Bentham G, Innes NJ, Scott DGI.* Are environmental factors important in primary systemic vasculitis? A case-control study. *Arthritis Rheum.* 2003;48:814-23.
- [22] *Rihova Z, Maixnerova D, Jancova E, Pelcova D, Bartunkova J, Fenclova Z, et al.* Silica and asbestos exposure in ANCA-associated vasculitis with pulmonary involvement. *Ren Fail.* 2005;27:605-8.
- [23] *Leigh J, Wang H, Bonin A, Peters M, Ruan X.* Silica-induced apoptosis in alveolar and granulomatous cells in vivo. *Environ Health Perspect.* 1997;105(suppl 5):1241-5.
- [24] *Cohen Tervaert JW, Stegeman CA, Kallenberg CG.* Silicon exposure and vasculitis. *Curr Opin Rheumatol.* 1998;10:12-7.
- [25] *Sanchez-Roman J, Wichmann I, Salaberri J, Varela JM, Nuñez-Roldan A.* Multiple clinical and biological autoimmune manifestations in 50 workers after occupational exposure to silica. *Ann Rheum Dis.* 1993;52:534-8.
- [26] *Rosenman KD, Moore-Fuller M, Reilly MJ.* Connective tissue disease and silicosis. *Am J Ind Med.* 1999;35:375-81.
- [27] *Duna GF, Cotch MF, Galperin C, Hoffman DB, Hoffman GS.* Wegener's granulomatosis: role of environmental exposures. *Clin Exp Rheumatol.* 1998;16:669-74.
- [28] *Pelclová D, Bartunková J, Fenclová Z, Lebedová J, Hladíková M, Benáková H.* Asbestos exposure and antineutrophil cytoplasmic antibody (ANCA) positivity. *Arch Environ Health.* 2003;58:622-8.
- [29] *Esnault VL, Jayne DR, Keogan MT, Brownlee AA, Testa A, Lecarrer D, et al.* Anti-neutrophil cytoplasm antibodies in patients with monoclonal gammopathies. *J Clin Lab Immunol.* 1990;32:153-9.
- [30] *Savige JA, Chang L, Smith CL, Duggan JC.* Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) in myelodysplasia and other haematological disorders. *Aust N Z J Med.* 1994;24:282-7.
- [31] *Trimarchi M, Gregorini G, Facchetti F, Morassi ML, Manfredini C, Maroldi R, et al.* Cocaine-induced midline destructive lesions: clinical, radiographic, histopathologic, and serologic features and their differentiation from Wegener granulomatosis. *Medicine (Baltimore).* 2001;80:391-404.
- [32] *Rachapalli SM, Kiely PD.* Cocaine-induced midline destructive lesions mimicking ENT-limited Wegener's granulomatosis. *Scand J Rheumatol.* 2008;37:477-80.
- [33] *De Lange TE, Simsek S, Kramer MH, Nanayakkara PW.* A case of cocaine-induced panhypopituitarism with human neutrophil elastase-specific anti-neutrophil cytoplasmic antibodies. *Eur J Endocrinol.* 2009;160:499-502.
- [34] *Wiesner O, Russell KA, Lee AS, Jenne DE, Trimarchi M, Gregorini G, et al.* Antineutrophil cytoplasmic antibodies reacting with human neutrophil elastase as a diagnostic marker for cocaine-induced midline destructive lesions but not autoimmune vasculitis. *Arthritis Rheum.* 2004;50:2954-65.
- [35] *Cohen Tervaert JW, Stegeman CA.* A difficult diagnosis. *Lancet.* 2004;364:1313-4.
- [36] *Neynaber S, Mistry-Burchardi N, Rust C, Samtleben W, Burgdorf WHC, Seitz MA, et al.* PR3-ANCA-positive necrotizing multi-organ vasculitis following cocaine abuse. *Acta Derm Venereol.* 2008;88:594-6.
- [37] *Friedman DR, Wolfsthal SD.* Cocaine-induced pseudovasculitis. *Mayo Clin Proc.* 2005;80:671-3.
- [38] *Cuadrado MJ, D'Cruz D, Lloyd M, Mujic F, Khamashta MA, Hughes GR.* Allergic disorders in systemic vasculitis: a case-controlled study. *Br J Rheumatol.* 1994;33:749-53.
- [39] *Tomer Y, Barak V, Gilburd B, Shoenfeld Y.* Cytokines in experimental autoimmune vasculitis: evidence for a Th2 type response. *Clin Exp Rheumatol.* 1999;17:521-6.
- [40] *Schnabel A, Csernok DE, Isenberg DA, Mrowka C, Gross WL.* Antineutrophil cytoplasmic antibodies in systemic lupus erythematosus. Prevalence, speci-

ficiencies, and clinical significance. *Arthritis Rheum.* 1995;38:633-7.

[41] *Saulsbury FT, Kirkpatrick PR, Bolton WK.* IgA antineutrophil cytoplasmic antibody in Henoch-Schönlein purpura. *Am J Nephrol.* 1991;11:295-300.

[42] *Rovel-Guitera P, Diemert MC, Charuel JL, Laporte JL, Musset L, Chosidow O, et al.* IgA antineutrophil cytoplasmic antibodies in cutaneous vasculitis. *Br J Dermatol.* 2000;143:99-103.

[43] *Ayoub N, Charuel JL, Diemert MC, Barete S, André M, Fermand JP, et al.* Antineutrophil cytoplasmic antibodies of IgA class in neutrophil dermatoses with emphasis on erythema elevatum diutinum. *Arch Dermatol.* 2004;140:931-6.

[44] *De Bandt M, Saint-Marcoux B, on behalf of the CRI (Club Rhumatismes et Inflammation).* Tumour necrosis factor α blockade and the risk of vasculitis. *Ann Rheum Dis.* 2006;65:1534-5.

[45] *Simms R, Kipgen D, Dahill S, Marshall D, Rodger RS.* ANCA-associated renal vasculitis following anti-tumor necrosis factor α therapy. *Am J Kidney Dis.* 2008;51:e11 4.

[46] *Stokes MB, Foster K, Markowitz GS, Ebrahimi F, Hines W, Kaufman D, et al.* Development of glomerulonephritis during anti-TNF- α therapy for rheumatoid arthritis. *Nephrol Dial Transplant.* 2005;20:1400-6.

[47] *Choi HK, Merkel PA, Niles JL.* ANCA-positive vasculitis associated with allopurinol therapy. *Clin Exp Rheumatol.* 1998;16:743-4.

[48] *Haroon M, Devlin J.* A case of ANCA-associated systemic vasculitis induced by atorvastatin. *Clin Rheumatol.* 2008;27:S75-7.

[49] *Thabet F, Sghiri R, Tabarki B, Ghedira I, Yacoub M, Essoussi AS.* ANCA-associated diffuse alveolar hemorrhage due to benzylthiouracil. *Eur J Pediatr.* 2006;165:435-6.

[50] *Hachicha M, Kammoun T, Ben Romdhane W, Ben Abdallah R, Mahfoudh A, Kammoun K, et al.* Vascularite avec atteinte rénale et anticorps anticytoplasme des polynucléaires neutrophiles (ANCA) après prise de benzylthio-uracile chez l'enfant. *Nephrol Ther.* 2007;3:147-51.

[51] *Sghiri R, Ouertani M, Ben Hsine H, Slim I, Chaieb L, Ghedira I.* Prevalence of antineutrophil cytoplasmic antibodies during treatment with benzylthiouracil. *Pathol Biol.* 2009;57:410-4.

[52] *Calanas-Continente A, Espinosa M, Manzano-Garcia G, Santamaria R, Lopez-Rubio F, Aljama P.* Necrotizing glomerulonephritis and pulmonary hemorrhage associated with carbimazole therapy. *Thyroid.* 2005;15:286-8.

[53] *Harper L, Chin L, Daykin J, Allahabadia A, Heward J, Gough SC, et al.* Propylthiouracil and carbimazole associated-antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) in patients with Graves' disease. *Clin Endocrinol.* 2004;60:671-5.

[54] *Miller RM, Savige J, Nassis L, Cominos BI.* Antineutrophil cytoplasmic antibody (ANCA)-positive cutaneous leucocytoclastic vasculitis associated with antithyroid therapy in Graves' disease. *Australas J Dermatol.* 1998;39:69-9.

[55] *Feriozzi S, Muda AO, Gomes V, Montanaro M, Faraggiana T, Ancarani E.* Cephalexin-associated allergic intestinal nephritis and MPO-ANCA positive vasculitis. *Ren Fail.* 2000;22:245-51.

[56] *Kitahara T, Hiromura K, Sugawara M, Hirato J, Sato S, Ueki K, et al.* A case of cimetidine-induced acute tubulointerstitial nephritis associated with antineutrophil cytoplasmic antibody. *Am J Kidney Dis.* 1999;33:E7.

[57] *Ueda H, Ishimura E, Yunoki T, Tsuchida T, Matsumoto N, Jono S, et al.* Cimetidine-induced tubulointerstitial nephritis with both MPO-ANCA and PR3-ANCA. *Clin Exp Nephrol.* 2005;9:332-4.

[58] *Shih DJ, Korbet SM, Rydel JJ, Schwartz MM.* Renal vasculitis associated with ciprofloxacin. *Am J Kidney Dis.* 1995;26:516-9.

[59] *Nässberger L, Johansson AC, Björck S, Sjöholm AG.* Antibodies to neutrophil granulocyte myeloperoxidase and elastase: autoimmune responses in glomerulonephritis due to hydralazine treatment. *J Intern Med.* 1991;229:261-5.

[60] *Almroth G, Eneström S, Hed J, Samuelsson I, Sjöström P.* Autoantibodies to leucocyte antigens in hydralazine-associated nephritis. *J Intern Med.* 1992;231:37-42.

[61] *Short AK, Lockwood CM.* Antigen specificity in hydralazine associated ANCA positive systemic vasculitis. *QJM.* 1995;88:775-83.

[62] *Yokogawa N, Vivino FB.* Hydralazine-induced autoimmune disease: comparison to idiopathic lupus and ANCA-positive vasculitis. *Mod Rheumatol.* 2009;19:338-47.

[63] *Sakai N, Wada T, Shimizu M, Segawa C, Furuichi K, Kobayashi K, et al.* Tubulointerstitial nephritis with anti-neutrophil cytoplasmic antibody following indomethacin treatment. *Nephrol Dial Transplant.* 1999;14:2774.

[64] *Ashok D, Dubey S, Tomlinson I.* C-ANCA positive systemic vasculitis in a patient with rheumatoid arthritis treated with infliximab. *Clin Rheumatol.* 2008;27:261-4.

[65] *Rongioletti F, Ghio L, Ginevri F, Bleidl D, Rinaldi*

- S, Edefonti A, et al.* Purpura of the ears: a distinctive vasculopathy with circulating autoantibodies complicating long-term treatment with levamisole in children. *Br J Dermatol.* 1999;140:948-51.
- [66] *Powell J, Grech H, Holder J.* A boy with cutaneous necrosis occurring during treatment with levamisole. *Clin Exp Immunol.* 2002;27:32-3.
- [67] *Ten Holder SM, Joy MS, Falk RJ.* Cutaneous and systemic manifestations of drug-induced vasculitis. *Ann Pharmacother.* 2002;36:130-47.
- [68] *Thong HY, Chu CY, Chiu HC.* Methimazole-induced antineutrophil cytoplasmic antibody (ANCA)-associated vasculitis and lupus-like syndrome with a cutaneous feature of vesiculo-bullous systemic lupus erythematosus. *Acta Derm Venereol.* 2002;82:206-8.
- [69] *Bilu Martin D, Deng A, Gaspari A, Pearson F.* Perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis in a patient with Graves' disease treated with methimazole. *Skinmed.* 2006;5:302-5.
- [70] *Elkayam O, Yaron M, Caspi D.* Minocycline induced arthritis associated with fever, livedo reticularis, and pANCA. *Ann Rheum Dis.* 1996;55:769-71.
- [71] *Sethi S, Sahani M, Oei LS.* ANCA-positive crescentic glomerulonephritis associated with minocycline therapy. *Am J Kidney Dis.* 2003;42:E9.
- [72] *Marzo-Ortega H, Baxter K, Strauss RM, Drysdale S, Griffiths B, Misbah SA, et al.* Is minocycline therapy in acne associated with antineutrophil cytoplasmic antibody positivity? A cross-sectional study. *Br J Dermatol.* 2007;156:1005-9.
- [73] *Singer S, Parry RG, Deodhar HA, Barnes JN.* Acute interstitial nephritis, omeprazole and antineutrophil cytoplasmic antibodies. *Clin Nephrol.* 1994;42:280.
- [74] *Jacobs-Kosmin D, Derk CT, Sandorfi N.* Pantoprazole and perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis. *J Rheumatol.* 2006;33:629-32.
- [75] *Bienaimé F, Clerbaux G, Plaisier E, Mougnot B, Ronco P, Rougier JP.* D-Penicillamine-induced ANCA-associated crescentic glomerulonephritis in Wilson disease. *Am J Kidney Dis.* 2007;50:821-5.
- [76] *Parry RG, Gordon P, Mason JC, Marley NJE.* Phenytoin-associated vasculitis and ANCA positivity: a case report. *Nephrol Dial Transplant.* 1996;11:357-9.
- [77] *Dolman KM, Gans RO, Vervat TJ, Zevenbergen G, Maingay D, Nikkels RE, et al.* Vasculitis and antineutrophil cytoplasmic autoantibodies associated with propylthiouracil therapy. *Lancet.* 1993;342:651-2.
- [78] *Kitahara T, Hiromura K, Maezawa A, Ono K, Narabara N, Yano S, et al.* Case of propylthiouracil-induced vasculitis associated with anti-neutrophil cytoplasmic antibody (ANCA); review of literature. *Clin Nephrol.* 1997;47:336-40.
- [79] *Sato H, Hattori M, Fujieda M, Sugihara S, Inomata H, Hoshi M, et al.* High prevalence of antineutrophil cytoplasmic antibody positivity in childhood onset Graves' disease treated with propylthiouracil. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000;85:4270-3.
- [80] *Slot MC, Links TP, Stegeman CA, Cohen Tervaert JW.* Occurrence of antineutrophil cytoplasmic antibodies and associated vasculitis in patients with hyperthyroidism treated with antithyroid drugs: a long-term followup study. *Arthritis Rheum.* 2005;53:108-13.
- [81] *Boulenger-Vazel A, Kupfer-Bessagnet I, Gouedard C, Leberre R, Leroy JP, Sonnet E, et al.* Dermatose neutrophilique associée à des anticorps anticytoplasme des polynucléaires neutrophiles (p-ANCA) induits par le propylthiouracil. *Ann Dermatol Venereol.* 2005;132:27-31.
- [82] *Aloush V, Litinsky I, Caspi D, Elkayam O.* Propylthiouracil-induced autoimmune syndromes: two distinct clinical presentations with different course and management. *Semin Arthritis Rheum.* 2006;36:4-9.
- [83] *Abe T, Nogawa S, Tanahashi N, Shiraishi E, Ikeda E, Suzuki N.* Cerebral pachyleptomeningitis associated with MPO-ANCA induced by PTU therapy. *Intern Med.* 2007;46:247-50.
- [84] *Gao Y, Chen M, Ye H, Yu F, Guo XH, Zhao MH.* Long-term outcomes of patients with propylthiouracil-induced anti-neutrophil cytoplasmic auto-antibody-associated vasculitis. *Rheumatology.* 2008;47:1515-20.
- [85] *Denissen NH, Peters JG, Masereeuw R, Barrera P.* Can sulfasalazine therapy induce or exacerbate Wegener's granulomatosis? *Scand J Rheumatol.* 2008;37:72-4.
- [86] *Salerno SM, Ormseth EJ, Roth BJ, Meyer CA, Christensen ED, Dillard TA.* Sulfasalazine pulmonary toxicity in ulcerative colitis mimicking clinical features of Wegener's granulomatosis. *Chest.* 1996;110:556-9.
- [87] *Greenfield JR, McGrath M, Kossard S, Charlesworth JA, Campbell LV.* ANCA-positive vasculitis induced by thioridazine: confirmed by rechallenge. *Br J Dermatol.* 2002;147:1265-67.
- [88] *Cilursu AM, Goeken J, Olson RR.* Detection of antineutrophil cytoplasmic antibody in a patient with L-tryptophan induced eosinophilia-myalgia

syndrome. *Ann Rheum Dis.* 1991;50:817-9.

[89] *Pudifin DJ, Duursma J, Gathiram V, Jackson TFHG.* Invasive amoebiasis is associated with the development of anti-neutrophil cytoplasmic antibody. *Clin Exp Immunol.* 1994;97:48-51.

[90] *Cho C, Asuncion A, Tatum AH.* False-positive antineutrophil cytoplasmic antibody in aspergillosis with oxalosis. *Arch Pathol Lab Med.* 1995;119:558-61.

[91] *Subra JF, Michelet C, Laporte J, Carrere F, Reboul P, Cartier F, et al.* The presence of cytoplasmic antineutrophil cytoplasmic antibodies (C-ANCA) in the course of subacute bacterial endocarditis with glomerular involvement, coincidence or association? *Clin Nephrol.* 1998;49:15-8.

[92] *Hellmich B, Ehren M, Lindstaedt M, Meyer M, Pfohl M, Schatz H.* Anti-MPO-ANCA-positive microscopic polyangiitis following subacute bacterial endocarditis. *Clin Rheumatol.* 2001;20:441-3.

[93] *Mead GE, Wilks D, McLaren K, Fergusson RJ.* Oral histoplasmosis: a case report. *J Infect.* 1998;37:73-5.

[94] *Medina F, Camargo A, Moreno J, Zonana-Nacach A, Aceves-Avila J, Fraga A.* Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies in leprosy. *Br J Rheumatol.* 1998;37:270-3.

[95] *Constantin A, Marin F, Oksman F, Bouteiller G.* Antineutrophil cytoplasmic antibodies in leptospirosis. *J Rheumatol.* 1996;23:411.

[96] *Yahya TM, Benedict S, Shalabi A, Bayoumi R.* Anti-neutrophil cytoplasmic antibody (ANCA) in malaria is directed against cathepsin G. *Clin Exp Immunol.* 1997;110:41-4.

[97] *Chou TN, Hsu TC, Chen RM, Lin LI, Tsay GJ.* Parvovirus B19 infection associated with the production of anti-neutrophil cytoplasmic antibody (ANCA) and anticardiolipin antibody (aCL). *Lupus.* 2000;9:551-4.

[98] *Carlsson M, Eriksson L, Erwander I, Wieslander J, Segelmark M.* Pseudomonas-induced lung damage in cystic fibrosis correlates to bactericidal-permeability increasing protein (BPI)-autoantibodies. *Clin Exp Rheumatol.* 2003;21:S95-100.

[99] *Byrd RP, Hourany J, Cooper C, Roy TM.* False-positive antineutrophil cytoplasmic antibodies in a patient with cavitory pulmonary sporotrichosis. *Am J Med.* 1998;104:101-3

[100] *Klaassen RJL, Goldschmeding R, Dolman KM, Vlekke ABJ, Weigel HM, Eeftink Schattenkerk JKM, et al.* Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies in patients with symptomatic HIV infection. *Clin Exp Immunol.* 1992;87:24-30.

[101] *Vassilopoulos D, Niles JL, Villa-Forte A, Arroliga AC, Sullivan EJ, Merkel PA, et al.* Prevalence of antineutrophil cytoplasmic antibodies in patients with various pulmonary diseases or multiorgan dysfunction. *Arthritis Rheum.* 2003;49:151-5.

[102] *Mulder L, van Rossum M, Horst G, Limburg P, de Graeff-Meeder ER, Kuis W, et al.* Antineutrophil cytoplasmic antibodies in juvenile chronic arthritis. *J Rheumatol.* 1997;24:568-75.

[103] *Locht H, Skogh T, Kihlström E.* Anti-lactoferrin antibodies and other types of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) in reactive arthritis and ankylosing spondylitis. *Clin Exp Immunol.* 1999;117:568-73.

[104] *Merkel PA, Polisson RP, Chang Y, Skates SJ, Niles JL.* Prevalence of antineutrophil cytoplasmic antibodies in a large inception cohort of patients with connective tissue disease. *Ann Intern Med.* 1997;126:866-73.

[105] *Cooper T, Savige J, Nassis L, Paspaliaris B, Neeson P, Neil J, et al.* Clinical associations and characterisation of antineutrophil cytoplasmic antibodies directed against bactericidal/permeability increasing protein and azurocidin. *Rheumatol Int.* 2000;19:129-36.

[106] *Sakemi T, Tomiyoshi Y, Yano H, Ikeda Y, Matsuo Y, Kudo S.* Retroperitoneal fibrosis with perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies and a longitudinally extended periaortic soft-tissue structure on CT. *Nephron.* 1998;78:218-20.

[107] *Ardiles LG, Valderrama G, Moya P, Mezzano SA.* Incidence and studies on antigenic specificities of antineutrophil-cytoplasmic autoantibodies (ANCA) in poststreptococcal glomerulonephritis. *Clin Nephrol.* 1997;47:1-5.

[108] *Attia S, Yalaoui S, Bousnina S, Fekih L, Hassen H, Fenniche S, et al.* Positivité des anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles au cours d'une hémosidérose pulmonaire idiopathique. *Ann Biol Clin.* 2005;63:209-12.

[109] *Baleva M, Kolarov Z, Nikolov K.* Antineutrophil cytoplasmic autoantibody in two patients with Behçet's disease. *Nephrol Dial Transplant.* 1994;9:876.

[110] *Furuichi K, Wada T, Shimizu M, Segawa C, Ohta S, Takasawa K, et al.* Antimyeloperoxidase-antibody-positive rapidly progressive glomerulonephritis associated with Castleman's disease. *Nephrol Dial Transplant.* 1998;13:1556-8.

[111] *Bosch X, Font J, Mirapeix E, Cid MC, Revert L, Ingelmo M.* Antineutrophil cytoplasmic antibodies in giant cell arteritis. *J Rheumatol.* 1991;18:787-8.

[112] Rider LG, Wener MH, French J, Sherry DD, Mendelman PM. Autoantibody production in Kawasaki syndrome. *Clin Exp Rheumatol*. 1993;11:445-9.

[113] Uppal SS, Verma S. Analysis of the clinical profile, autoimmune phenomena and T cell subsets (CD4 and CD8) in Takayasu's arteritis: a hospital-based study. *Clin Exp Rheumatol*. 2003;21:S112-6.

[114] Forde AM, Feighery C, Jackson J. Characterisation of anti-neutrophil cytoplasmic antibody target antigens using electrophoresis and western blotting techniques. *Br J Biomed Sci*. 1998;55:247-52.

[115] Dwyer KM, Agar JW, Hill PA, Murphy BF. Membranous nephropathy and anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated glomerulonephritis: a report of 2 cases. *Clin Nephrol*. 2001;56:394-7.

[116] Papo T, Piette JC, Le Thi Huong D, Godeau P, Meyer O, Kahn MF, et al. Antineutrophil cytoplasmic antibodies in polycondritis. *Ann Rheum Dis*. 1993;52:384-6.

[117] Ruffatti A, Sinico RA, Radice A, Ossi E, Cozzi F, Tonello M, et al. Autoantibodies to proteinase 3 and myeloperoxidase in systemic sclerosis. *J Rheumatol*. 2002;29:918-23.

[118] Juby A, Johnston C, Davis P, Russell AS. Antinuclear and antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) in the sera of patients with Felty's syndrome. *Br J Rheumatol*. 1992;31:185-8.

[119] Font J, Ramos-Casals M, Cervera R, Bosch X, Mirapeix E, Garcia-Carrasco M, et al. Antineutrophil cytoplasmic antibodies in primary Sjögren's syndrome : prevalence and clinical significance. *Br J Rheumatol*. 1998;37:1287-91.

[120] Burrows NP. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in Sweet's syndrome. *J Am Acad Dermatol*. 1994;31:825-6.

[121] Lamprecht P, Schnabel A, Csernok E, Gross WL. ANCA, anti-alpha-enolase antibodies and cryoglobulinemic vasculitis: pathogenetic implications. *Clin Exp Rheumatol*. 1998;16:513.



Les anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles de spécificités autres qu'anti-protéinase 3 ou anti-myéloperoxydase : corrélations clinicobiologiques

Maxime BOYER, Alain CHEVAILLER

Laboratoire d'Immunologie et d'Allergologie, Pôle de Biologie, Hôpital Larrey, CHU, 49033 Angers Cedex 01

Abréviations

AAN : anticorps antinucléaire
ANCA : antineutrophil cytoplasmic autoantibody
ASCA : anticorps anti-*Saccharomyces cerevisiae* antibody
BPI : bactericidal/permeability-increasing protein
ELISA : enzyme-linked immunosorbent assay
h-lamp-2 : human lysosomal membrane protein 2
HEp-2 : human epithelioma 2
IFI : immunofluorescence indirecte
LPS : lipopolysaccharide
MICI : maladie inflammatoire chronique de l'intestin
MPA : micropolyangéite
MPO : myéloperoxydase
PNN : polynucléaire neutrophile
PR3 : protéinase 3

1. Introduction

Les anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles (ANCA pour "anti-neutrophil cytoplasmic antibodies") sont des autoanticorps dirigés contre des constituants antigéniques présents dans les granules des polynucléaires neutrophiles (PNN), principalement les granules primaires (azurophiles ou alpha) et dans les lysosomes des monocytes. Ce sont de bons marqueurs sérologiques pour le diagnostic des patients atteints de vascularites systémiques nécrosantes [1] telles que la granulomatose de Wegener et la polyangéite microscopique (MPA). La positivité des ANCA et l'identification de leur cible antigénique est une aide précieuse au diagnostic des vascularites [2], dont la classification, adoptée par la conférence de consensus à Chapel Hill, est toutefois toujours basée sur des critères cliniques et histologiques [3].

En 1982, Davies et coll. sont les premiers à décrire des glomérulonéphrites nécrosantes à ANCA [4] ; à l'époque ces auteurs avaient évoqué une possible liaison à une arbovirose. Depuis, l'éventail des maladies associées aux ANCA et le panel d'antigènes contre lesquels ils sont dirigés se sont élargis. En 1984, Hall et coll. retrouvaient des ANCA chez quatre patients atteints d'une vascularite systémique dont trois avaient une glomérulonéphrite nécrosante focale [5]. En 1985, Van der Woude et coll. démontraient l'association des ANCA avec la granulomatose de Wegener et suggéraient qu'ils puissent être utilisés comme marqueurs de l'activité de la maladie [6]. Les ANCA ont ensuite été décrits au cours de la MPA et du syndrome de Churg et Strauss [7].

2. Détection par immunofluorescence indirecte

Lors du premier congrès de Copenhague en 1988, la méthode de référence adoptée pour leur détection est l'immunofluorescence indirecte (IFI) sur PNN humains normaux fixés à l'éthanol [8]. Falk et Jennette [9] ont été les premiers à décrire l'aspect périmoléculaire des ANCA (pANCA) chez des patients atteints de glomérulonéphrite nécrosante et micro-polyangéite (MPA). Ils ont identifié la myéloperoxydase (MPO) comme principale cible antigénique de ces pANCA. Par ailleurs Lüdeman et al. [10] ont montré que les ANCA à fluorescence cytoplasmique (cANCA) retrouvés dans la maladie de Wegener sont dirigés principalement contre la protéinase 3 (PR3), identifiée initialement par Goldschmeding [11].

Dans certaines maladies, la relation étroite entre le taux d'ANCA et l'activité de celles-ci suggère leur rôle pathogène. Les ANCA activeraient les PNN et les monocytes dans les vaisseaux de petit calibre et les capillaires glomérulaires, ce qui aboutirait aux lésions anatomiques, avec infiltrat inflammatoire et nécrose qui caractérisent ces vascularites systémiques [12].

Depuis, un troisième type de fluorescence a été individualisé et appelé aANCA (atypical ANCA) ; dans ce cas la fluorescence est mixte, mélange des deux précédentes, cytoplasmique fine, à discret renforcement nucléaire [13].

3. Cibles autoantigéniques des ANCA

Il existe deux cibles antigéniques majeures des ANCA : la PR3 et la MPO [1]. Cependant il existe d'autres cibles antigéniques dites mineures, la lactoferrine, la cathepsine G, l'élastase, la BPI (bactericidal/permeability-increasing protein), l'azurocidine, les défensines, la h-lamp 2 (human lysosomal membrane

protein 2), le lysozyme, la β -glucuronidase, et l' α -énolase mais seulement les quatre premières sont détectables par les techniques commercialisées et utilisées au laboratoire [1]. Ce type d'ANCA a principalement été décrit au cours des maladies inflammatoires chroniques intestinales (MICI) [14], de la mucoviscidose [15], ainsi que dans d'autres pathologies chroniques.

Principale cible antigénique des cANCA, la PR3, molécule de 29 kDa ayant les caractéristiques d'une protéase à sérine, avait été isolée précédemment par Kao comme une enzyme protéolytique clivant l'élastine, l'hémoglobine, la fibronectine, la laminine, la vitronectine, le collagène de type IV [16]. La PR-3 est une protéine monocaténaire de 228 acides aminés. C'est l'une des quatre protéases à sérine présentes dans les granules primaires des PNN, avec la cathepsine G, l'élastase et l'azurocidine. Elle est la cible antigénique préférentielle des ANCA dans la granulomatose de Wegener [17]. Cette protéine détruit les bactéries dans les phagosomes en collaboration avec l'élastase, la cathepsine G et les radicaux libres d'oxygène [16]. A la différence de l'élastase, de la myéloperoxydase et de la cathepsine G, la PR3 est aussi présente dans les granules secondaires et les vésicules [18].

Environ 50 % des pANCA retrouvés chez les patients atteints de vascularite systémique ou de glomérulonéphrite extra-capillaire à faible composant immunitaire (" pauci-immune " des anglo-saxons) sont spécifiques de la MPO. Cette enzyme avait été décrite en 1941 sous le nom de verdoperoxydase. Elle est contenue dans les granules azurophiles. Il s'agit d'un oxydant puissant qui permet la production d'acide hypochloreux. Cet acide est un puissant agent bactériolytique capable d'inactiver les inhibiteurs des protéases, et peut donc avoir un effet indirect dans la dégradation tissulaire observée dans les désordres inflammatoires [19]. Cette molécule se présente sous forme de deux dimères $\alpha\beta$ identiques associés chacun à une molécule d'hème. Les anticorps anti-MPO sont retrouvés dans 70 % des glomérulonéphrites extra-capillaires pauci-immunes, 60 % des syndromes de Churg et Strauss et 10 % des maladies de Wegener [1].

La BPI est une protéine cationique antimicrobienne de 57 kDa présente dans les granules primaires des PNN. Elle a une action cytotoxique contre les bactéries à Gram négatif [20, 21] en se liant à leurs lipopolysaccharides (LPS) et a des effets cytotoxiques et neutralisants sur les endotoxines libérées. Dans 50 % des cas les anticorps anti-BPI ont un aspect cANCA. Il est de plus démontré que près de la moitié des anticorps anti-BPI sont négatifs en IFI [22]. Les ANCA dirigés contre la BPI sont retrouvés dans 45 % des vascularites ANCA-IFI positives mais PR3 et MPO

négatives [23]. Parmi les pathologies associées, on retrouve principalement les maladies inflammatoires chroniques intestinales [24]. Initialement désignés comme marqueurs de mucoviscidose, il est désormais clairement démontré que les ANCA dirigés contre la BPI sont, dans cette pathologie, des marqueurs de colonisation par *Pseudomonas aeruginosa* [25].

La lactoferrine est une protéine présente dans le lait, la sueur, la salive et dans les granules secondaires des PNN, constituée d'une seule chaîne de 692 acides aminés et de 78 kDa. Les anticorps anti-lactoferrine ont été retrouvés dans de rares cas de connectivites, et, tout comme les anticorps anti-élastase et les anticorps anti-azurocidine, dans les vascularites iatrogènes (notamment à l'hydralazine) [26].

L'élastase et la cathepsine G sont avec la PR3, les deux autres protéases à sérine des granules primaires. Elles ont le même poids moléculaire de 29 kDa, et une forte homologie de séquence, notamment dans la région du site enzymatique [25].

L'azurocidine est une protéine cationique de 27 kDa présentant une homologie structurale avec la PR3, la cathepsine G et l'élastase. Contrairement à ces dernières molécules, elle n'a cependant pas d'activité enzymatique en raison de deux mutations touchant le site enzymatique (His * Ser et Ser * Gly). Les anticorps anti-azurocidine représentent 10 % des ANCA ils sont principalement retrouvés en association avec d'autres spécificités (MPO, lactoferrine), surtout dans les vascularites induites par l'hydralazine [27].

Les défensines sont de petits peptides à activité antibiotique qui sont les constituants majeurs des granules des PNN puisqu'ils représentent de 5 à 18 % des protéines. Ils sont très homologues puisque les trois quarts ne diffèrent que par leur dernier acide aminé. Une étude a retrouvé des anticorps anti-défensine dans 100 % des cas de sowa (noir en arabe, en raison de la couleur de la peau), forme particulière d'infection par un parasite, *Onchocerca volvulus* [28].

Des ANCA dirigés contre une protéine de 170/80-110 kDa des membranes des granules des polynucléaires, la h-lamp-2 (human lysosomal membrane protein 2), ont été décrits dans 90 % de glomérulonérites extra-capillaires idiopathiques. Une protéine glomérulaire de 130 kDa présente une antigénicité croisée avec la h-lamp 2 et pourrait expliquer la survenue des glomérulonéphrites [29]. Le même groupe, qui avait précédemment identifié la h-lamp-2 comme nouvelle cible des ANCA, a démontré une reconnaissance croisée entre celle-ci et la protéine FimH1, protéine fimbriaire des bactéries à Gram négatif. L'immunisation de rats par FimH-1 génère des ANCA anti-h-lamp-2 et déclenche une vascularite

rénale [30].

Les ANCA dirigés contre ces antigènes mineurs n'ont à ce jour pas le même poids diagnostique que les cANCA anti-PR3 ou les pANCA anti-MPO. Dans une étude récente [31] on les retrouve dans 80 % des sérums positifs en IFI pour les ANCA mais négatifs pour les spécificités MPO ou PR3. Ils sont souvent multispécifiques, témoins d'une inflammation ou d'une infection chronique.

Le but de cette revue, à propos de l'étude monocentrique d'une cohorte de patients, est de rechercher s'il existe une association clinique pertinente entre les ANCA de spécificités mineures et certaines pathologies.

4. Patients et méthodes

4.1. Population étudiée

Soixante-treize patients ont été recrutés de manière rétrospective de 2001 à 2009. Le nombre de femmes et d'hommes est respectivement de quarante et trente-trois avec une moyenne d'âge de 48,3 ans (tableau I). Les patients sont issus en majeure partie du centre hospitalier universitaire d'Angers mais aussi des centres hospitaliers voisins (Poitiers, Saint Nazaire et la Roche-sur-Yon) (tableau II).

Dans ce travail, ont été inclus des patients pour lesquels la recherche d'ANCA par IFI était positive, quel que soit le type de fluorescence observé, et pour lesquels les tests en phase solide retrouvaient soit une monospécificité envers l'un des antigènes mineurs (lactoferrine, cathepsine G, élastase, BPI), soit une multispécificité antigénique incluant ou non aussi l'un des deux antigènes majeurs (PR3 et MPO).

4.2. Détection des ANCA

Tableau I - Données épidémiologiques

| | |
|------------------------|---------------------------|
| patients | 73 |
| sexe | feminin 40 masculin 33 |
| âge moyen (années) | 48,26 |
| écart type (années) | 29,69 |
| âges extrêmes (années) | 1 à 86 |

Pour le dépistage des ANCA nous avons utilisé la méthode de référence à savoir l'IFI sur PNN humains fixés à l'aide de différents fixateurs (éthanol, formol et méthanol) ainsi que la recherche parallèle d'anticorps antinucléaires (AAN) sur cellules HEp-2.

(Euroimmun distribué par BIO ADVANCE). En cas de positivité de l'IFI, la spécificité des ANCA est recherchée par des méthodes de type ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) :

Tableau II - Répartition des patients en fonction de leur service d'hospitalisation

| Services | Nombre de patients | Services | Nombre de patients |
|-----------------------|--------------------|-------------------------|--------------------|
| Rhumatologie | 3 | Pédiatrie | 9 |
| Oncologie pédiatrique | 3 | Endocrinologie | 4 |
| Maladies infectieuses | 4 | Médecine interne | 8 |
| Dermatologie | 2 | Hépatogastroentérologie | 6 |
| Pneumologie | 7 | Neurologie | 3 |
| Néphrologie | 7 | CH voisins | 17 |

- ANCA profil (Euroimmun distribué par BIO ADVANCE) qui permet la recherche simultanée de six spécificités antigéniques : PR3, MPO, lactoferrine, élastase, cathepsine G, et BPI ;
- ELISA monospécifique recherchant les anticorps anti-PR3 (Euroimmun distribué par BIO ADVANCE) ;
- ELISA monospécifique recherchant les anticorps anti-MPO (Kallestad™ distribué par Bio-Rad) : cette méthode a été utilisée jusqu'en 2008 ;
- EliA™ monospécifique, utilisant la fluorométrie, recherchant les anticorps anti-MPO (ImmunoCAP® Phadia), utilisée depuis 2008.

4.3. Signes cliniques et biologiques

Lors de l'inclusion des patients, des signes d'altération de l'état général (fièvre, anorexie et amaigrissement), d'atteinte rénale (créatinémie > 120 µmol/L, protéinurie, hématurie, hypertension artérielle), des signes extra-rénaux de vascularite systémique (pulmonaires, ORL, articulaires, musculaires, cutanés, neurologiques) ont été recherchés. Nous avons aussi noté si ces patients présentaient un syndrome inflammatoire, des anomalies du bilan hépatique, des anomalies de l'hémogramme. Enfin nous nous sommes intéressés aux paramètres immunologiques (dosages des IgG, IgA, IgM, du C3 et C4, des facteurs rhumatoïdes, AAN et ASCA [anticorps anti-*Saccharomyces cerevisiae*]).

5. Résultats

5.1. Données épidémiologiques

La distribution selon la tranche d'âge, tous sexes confondus (tableau III), dans la population étudiée montre une plus forte prévalence des ANCA non PR3 non MPO chez les patients de moins de dix ans et ceux de 60 ans et plus.

5.2. Cibles antigéniques et aspects de fluorescence observés

Cinquante-six sérums contiennent un ANCA monospécifique dirigé contre l'un des quatre antigènes mineurs (tableau IV). Dix-sept sont multispécifiques, associant à des degrés divers ces spécificités entre elles ou à l'un des deux antigènes majeurs, MPO ou PR3. Les ANCA dirigés contre la BPI sont largement majoritaires (49,3 %), qu'ils soient isolés (26) ou associés (10).

Pour 44 % des sérums (32/73), la fluorescence observée est atypique ; ce type de fluorescence est celui le plus souvent rencontré en cas d'ANCA monospécifiques dirigés contre la cathepsine G, l'élastase, la lactoferrine. Par contre, la moitié (13/26) des ANCA anti-BPI sont des cANCA.

Tableau III - Distribution des patients selon l'âge et le sexe

| Age (années) | 0-9 | 10-19 | 20-29 | 30-39 | 40-49 | 50-59 | 60-69 | 70-79 | 80 et plus |
|--------------|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------------|
| Total | 11 | 7 | 6 | 6 | 3 | 4 | 10 | 16 | 10 |
| Hommes | 6 | 1 | 1 | 4 | 2 | 3 | 7 | 6 | 4 |
| Femmes | 5 | 6 | 5 | 2 | 1 | 1 | 3 | 10 | 6 |

Tableau IV - Aspects de fluorescence observés en fonction des spécificités antigéniques identifiées

| IFI ELISA | Cytoplasmique | Périnucléaire | Atypique | Total |
|------------------------------|---------------|---------------|-----------|-----------|
| BPI | 13 | 4 | 9 | 26 |
| cat G | 3 | 1 | 4 | 8 |
| EL | 1 | 4 | 8 | 13 |
| LF | 1 | 3 | 5 | 9 |
| EL+ LF | 0 | 0 | 1 | 1 |
| BPI + cat G + PR3 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| BPI + cat G | 1 | 0 | 0 | 1 |
| BPI + cat G + MPO | 0 | 0 | 1 | 1 |
| BPI + PR3 | 4 | 0 | 0 | 4 |
| BPI + MPO | 1 | 0 | 0 | 1 |
| BPI + cat G + LF | 0 | 0 | 1 | 1 |
| BPI + cat G + EL + MPO + PR3 | 0 | 0 | 1 | 1 |
| EL + MPO + PR3 | 0 | 1 | 0 | 1 |
| LF + MPO | 0 | 1 | 0 | 1 |
| cat G + MPO | 0 | 1 | 0 | 1 |
| cat G + EL | 1 | 0 | 0 | 1 |
| EL + MPO | 0 | 0 | 1 | 1 |
| EL + PR3 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| Total | 26 | 15 | 32 | 73 |

BPI : bactericidal/permeability-increasing protein ; Cat G : cathepsine G ; EL : élastase ; LF : lactoferrine ; MPO : myéloperoxydase ; PR3 : protéinase 3.

5.3. Répartition des diagnostics

Les patients sont repartis en dix catégories en fonction de leur pathologie (tableau V). Les pathologies les plus fréquemment retrouvées sont les maladies pulmonaires (12), les maladies systémiques (11) autres que les rhumatismes inflammatoires (8) et les maladies digestives (10). Viennent ensuite les vascularites (9), et les pathologies infectieuses (8).

Deux patients ont une mucoviscidose : une jeune patiente de un an, au poumon non colonisé par *Pseudomonas aeruginosa*, donc classée dans le groupe des maladies pulmonaires, et une patiente de 23 ans, au poumon colonisé par *Pseudomonas aeruginosa*, donc classée dans le groupe des maladies infectieuses. Le deuxième patient qui a une infection à *Pseudomonas aeruginosa* est un homme de 73 ans qui a une bronchopneumathie obstructive.

Les MICI se répartissent en 4 rectocolites ulcéro-hémorragiques, 3 maladies de Crohn, et 3 MICI indéterminées. A l'exception de deux patients externes pour lesquels l'information n'est pas connue (une maladie de Crohn et une MICI indéterminée), la recherche des ASCA est négative.

Les anticorps anti-BPI, qui sont les plus fréquents, sont majoritairement retrouvés dans chacune des catégories de pathologies mis à part pour les pathologies rhumatismales où ce sont les anticorps anti-élastase qui ont été le plus souvent mis en évidence.

5.4. Etude des données cliniques

L'altération de l'état général est exprimée chez 53 % des patients (39/73). Il n'a pas toujours été possible de l'évaluer avec précision. En particulier, l'amai-

Tableau V - Répartition des pathologies en fonction du sexe, des spécificités antigéniques et de l'âge des patients

| Maladies | nbr | H | F | BPI | EL | Cath G | LF | Mult.spé | âge (moyen) |
|-------------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|-----------|-------------|
| Pulmonaires | 12 | 5 | 7 | 5 | 2 | 1 | 1 | 3 | 68 |
| Fibrose | 5 | 0 | 5 | 2 | 2 | | | 1 | 78 |
| Pneumopathie | 5 | 4 | 1 | 3 | | 1 | | 1 | 69 |
| Néoplasie | 1 | 1 | 0 | | | | 1 | | 82 |
| Mucoviscidose | 1 | 0 | 1 | | | | | 1 | 1 |
| Systémiques | 11 | 3 | 8 | 5 | 0 | 3 | 3 | 0 | 44 |
| SAPL | 1 | 1 | 0 | | | | 1 | | 46 |
| LES | 2 | 0 | 2 | | | 1 | 1 | | 25 |
| Gougerot- Sjögren | 2 | 0 | 2 | 2 | | | | | 62 |
| Dermatomyosite | 2 | 1 | 1 | 2 | | | | | 71 |
| Behçet | 1 | 0 | 1 | | | 1 | | | 29 |
| Fièvre périodique | 1 | 1 | 0 | 1 | | | | | 2 |
| Connectivite | 2 | 0 | 2 | | | 1 | 1 | | 48 |
| Intestinales | 10 | 4 | 6 | 4 | 0 | 2 | 1 | 3 | 29 |
| RCH | 4 | 3 | 1 | 1 | | 1 | | 2 | 21 |
| Crohn | 3 | 0 | 3 | 2 | | | 1 | | 59 |
| MICI indéterminée | 3 | 1 | 2 | 1 | | 1 | | 1 | 10 |
| Vascularitiques | 9 | 5 | 4 | 3 | 1 | 0 | 0 | 5 | 72 |
| Wegener | 2 | 1 | 1 | | | | | 2 | 77 |
| MPA | 3 | 2 | 1 | | 1 | | | 2 | 78 |
| Angéite cérébrale | 1 | 0 | 1 | 1 | | | | | 52 |
| Purpura rhumatoïde | 1 | 0 | 1 | 1 | | | | | 65 |
| Vascularite rénale | 1 | 0 | 1 | | | | | 1 | 77 |
| Vascularite non id | 1 | 1 | 0 | 1 | | | | | 68 |
| Infectieuses | 8 | 6 | 2 | 3 | 3 | 0 | 0 | 2 | 53 |
| Septicémie <i>S. aureus</i> | 2 | 2 | 0 | | 2 | | | | 49 |
| Infection <i>P. aeruginosa</i> | 2 | 1 | 1 | 2 | | | | | 49 |
| Abcès rénal | 1 | 0 | 1 | | | | | 1 | 67 |
| Endocardite | 1 | 1 | 0 | | | | | 1 | 81 |
| Infection HIV | 1 | 1 | 0 | | 1 | | | | 35 |
| Iléite bactérienne | 1 | 1 | 0 | 1 | | | | | 46 |
| Inflammatoires rhumatismales | 8 | 1 | 7 | 1 | 3 | 1 | 2 | 1 | 28 |
| Arth. chronique juvénile | 4 | 0 | 4 | | 2 | | 2 | | 2 |
| Spond. ankylosante | 1 | 0 | 1 | | 1 | | | | 44 |
| Chondrocalcinoïse | 1 | 0 | 1 | 1 | | | | | 77 |
| Polyarthralgies | 1 | 0 | 1 | | | | | 1 | 29 |
| Arthrite | 1 | 1 | 0 | | | 1 | | | 69 |
| Hématologiques | 5 | 4 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 28 |
| Lymphome | 1 | 1 | 0 | | | | | 1 | 65 |
| Wiskott-Aldrich | 1 | 1 | 0 | 1 | | | | | 1 |
| PTI | 1 | 0 | 1 | | 1 | | | | 10 |
| Myélome | 1 | 1 | 0 | | | | 1 | | 61 |
| Neutropénie | 1 | 1 | 0 | | | 1 | | | 3 |
| Hépatiques | 4 | 2 | 2 | 2 | 1 | 0 | 1 | 0 | 45 |
| Hépatite | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | | | | 22 |
| Cirrhose | 1 | 1 | 0 | 1 | | | | | 63 |
| Overlap syndrome | 1 | 0 | 1 | | | | 1 | | 73 |
| Rénales | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | | 61 |
| IR aiguë | 1 | 1 | 0 | 1 | | | | | 76 |
| IR terminale | 1 | 0 | 1 | | 1 | | | | 85 |
| Maladie de Berger | 1 | 1 | 0 | 1 | | | | | 23 |
| Non classées | 3 | 1 | 2 | 0 | 1 | 0 | 0 | 2 | 38 |
| Purpura folliculaire | 1 | 0 | 1 | | 1 | | | | 77 |
| HT intracrânienne | 1 | 0 | 1 | | | | | 1 | 37 |
| Syndrome Marshall | 1 | 1 | 0 | | | | | 1 | 1 |
| | 77 | 33 | 40 | 26 | 13 | 8 | 9 | 17 | 48,3 |

H : homme ; F : femme ; Nbr : nombre ; Cath G : cathepsine G ; EL : élastase ; LF : lactoferrine ; Mult.spé : multispécifiques ; SAPL : syndrome des anti-phospholipides ; LES : lupus érythémateux systémique ; RCH : rectocolite hémorragique ; MICI : maladie inflammatoire chronique intestinale ; IR : insuffisance rénale ; HT : hypertension ; BPI : bactericidal/permeability-increasing protein.

grissement n'est pas toujours chiffré. Enfin, concernant les manifestations cliniques, les plus fréquentes sont articulaires (23 %), cutanées (22 %), et l'hypertension artérielle (25 %).

5.5. Etude des données biologiques

Concernant les paramètres biologiques (tableau VI), plus de 80 % des patients présentaient un syndrome inflammatoire lors du dépistage des ANCA, et près de 58 % des patients avaient une anémie. Il existait un retentissement hépatique dans 49 % des cas (34/69 renseignés) soit sous forme de cholestase isolée, soit sous forme de cholestase associée à une cytolyse.

Il est à noter que la recherche d'AAN, lorsque celle-ci avait été demandée pour les patients hospitalisés au CHU d'Angers, s'est révélée positive dans près de 78 % des cas (42/54 renseignés).

Tableau VI - Données biologiques

| Paramètres | Patients | Pourcentage |
|--------------------|----------|-------------|
| CRP | | |
| Augmentée | 54 | 82 |
| Non renseignée | 7 | 10 |
| VS | | |
| Augmentée | 34 | 81 |
| Non renseignée | 31 | 42 |
| Hémoglobine | | |
| Anémie | 41 | 58 |
| Non renseignée | 2 | 3 |
| Leucocytes | | |
| Hyperleucocytose | 24 | 34 |
| Leucopénie | 1 | 1 |
| Non renseigné | 2 | 3 |
| Plaquettes | | |
| Thrombocytose | 17 | 24 |
| Thrombopénie | 5 | 7 |
| Non renseigné | 2 | 3 |

6. Discussion

Le caractère rétrospectif de cette étude est une limite dans la mesure où les dossiers ne possèdent pas toujours toutes les précisions souhaitées.

6.1. Analyse des données biologiques

Les patients présentent dans la majorité des cas une altération de l'état général (39/73 soit 53 %). Un syndrome inflammatoire et un syndrome anémique ont été respectivement mis en évidence chez plus de 80 % et 50 % des patients. Il existe un retentissement hépatique dans 49 % des cas (34 cas sur 69 rensei-

gnés), sous forme de cholestase isolée ou associée à une cytolyse. Quant aux manifestations cliniques, les plus fréquentes sont articulaires, cutanées, neurologiques et l'hypertension artérielle. Enfin il est à noter que la recherche d'AAN, lorsque celle-ci avait été demandée, s'est révélée positive dans près de 78 % des cas.

6.2. Analyse des résultats par spécificité des ANCA

6.2.1 Les anticorps anti-BPI

Ces anticorps ont été décrits chez des patients atteints de vascularite, de mucoviscidose ou infectés par *Pseudomonas aeruginosa*, ainsi que chez des patients atteints de maladies inflammatoires du tube digestif. Il a aussi été rapporté que près de 50 % des anticorps anti-BPI ne sont pas détectés en IFI, et parmi les sérums positifs, près de la moitié montre une fluorescence de type cANCA [32].

Les ANCA anti-BPI sont les anticorps les plus souvent rencontrés dans notre étude (36 sur 73 patients soit 49 %). Ce sont dans la moitié des cas des cANCA. Ces résultats sont en accord avec les données de la littérature [32]. Ces anticorps ont été mis en évidence, pour les ANCA monospécifiques, principalement dans les maladies systémiques (45 %), les pathologies pulmonaires (42 %) ; les MICI (40 %), les maladies infectieuses (37 %) et les vascularites (33 %). Nous pouvons donc penser que les études à point de départ sérologique et non clinique, comme la nôtre, sous-estiment la fréquence réelle des ANCA anti-BPI quand la stratégie de dépistage comporte classiquement une recherche par IFI en première intention. Seules des études prospectives à point de départ clinique, focalisées sur les pathologies d'intérêt, avec recherche systématique, quel que soit le résultat de l'IFI, d'ANCA anti-BPI par test en phase solide de type ELISA, pourront estimer la fréquence réelle de ces autoanticorps.

6.2.2. Les anticorps anti-cathepsine G

Ces anticorps peuvent être rencontrés chez des patients atteints de la maladie de Wegener, d'affection inflammatoire du tube digestif, de cholangite sclérosante [33], d'hépatite auto-immune, de cirrhose biliaire primitive et de cirrhose alcoolique. Ces autoanticorps produisent une fluorescence de type pANCA ou aANCA en IFI [34].

Dans notre étude ces autoanticorps ont été retrouvés dans 21 % des cas (15/73 patients) et montraient dans la majorité des cas une fluorescence atypique. Ces autoanticorps ont principalement été mis en évidence, pour les ANCA monospécifiques, dans les maladies systémiques (27 %) et intestinales (25 %).

6.2.3. Les anticorps anti-élastase

Ils ont été décrits au cours de vascularites, de connectivites et dans des cas de glomérulonéphrites induites par l'hydralazine, ainsi que lors de pathologies infectieuses dont notamment l'infection par le virus HIV. L'aspect de la fluorescence observée est généralement atypique [35].

Nous avons mis en évidence ce type d'anticorps chez 26 % de nos patients (19 sur 73 patients). L'aspect de fluorescence observée était préférentiellement atypique (11 sur 13). Ces anticorps ont été mis en évidence, pour les ANCA monospécifiques, chez des patients souffrant de rhumatismes inflammatoires (37,5 %), de pathologies infectieuses (37,5 % dont un patient infecté par le HIV) et de maladies pulmonaires (42 %). A noter que cette cohorte ne comporte pas de patients souffrant de vascularite iatrogène, comme décrit dans la littérature [25].

6.2.4. Les anticorps anti-lactoferrine

Des anticorps anti-lactoferrine ont été retrouvés dans des MICI, dans la polyarthrite rhumatoïde, dans de rares cas de connectivites, et, tout comme les anticorps anti-élastase et les anticorps anti-azurocistine, dans les vascularites iatrogènes. Ces anticorps produisent généralement une fluorescence atypique [26].

Dans notre travail, ces autoanticorps ont été retrouvés chez 16 % des patients (12 sur 73 patients) avec un aspect de fluorescence le plus souvent atypique (7 sur 9). Ces anticorps ont été essentiellement retrouvés, pour les ANCA monospécifiques, chez des patients souffrant de connectivites (27 %) et de rhumatismes inflammatoires (25 %). Toutefois il est intéressant de noter qu'aucun patient n'avait une polyarthrite rhumatoïde comme cela avait été décrit dans la littérature [26]. A noter également que cette cohorte ne comporte pas de patients souffrant de vascularite iatrogène, comme décrit dans la littérature [25].

6.2.5. Les ANCA multispécifiques

Des ANCA multispécifiques ont été mis en évidence chez 23 % de nos patients (17 sur 73 patients). Dans 71 % des cas (12/17), deux spécificités ont été retrouvées mais il a parfois été mis en évidence trois (4) voire cinq spécificités (1). Plus en détail, dans ce groupe nous retrouvons cinq vascularites dont deux maladies de Wegener associant anticorps anti-PR3 et anticorps anti-BPI, deux MPA associant soit des anticorps anti-lactoferrine ou des anticorps anti-cathepsine G à des anticorps anti-MPO et une vascularite rénale. Les spécificités mises en évidence dans le

cadre de ces pathologies ainsi que l'aspect de la fluorescence observée, à savoir l'aspect cANCA pour les deux patients souffrant de la maladie de Wegener et l'aspect pANCA concernant les patients ayant développé une MPA, sont tout à fait en accord avec ce qui est décrit dans la littérature. Nous retrouvons aussi trois patients souffrant de MICI dont deux de RCH et une d'une MICI non encore étiquetée. Chez ces patients nous identifions comme principales cibles antigéniques la BPI, la cathepsine G et la lactoferrine. Il s'agit de cibles antigéniques régulièrement retrouvées dans les MICI [36]. De plus ce groupe comprend aussi un patient atteint de mucoviscidose ayant développé des anticorps dirigés contre la BPI mais aussi contre la cathepsine G et la MPO, ainsi qu'un patient chez qui on a retrouvé, à la suite d'une endocardite, des anticorps anti-BPI, anti-cathepsine G et anti-lactoferrine. Ces résultats sont en accord avec les précédents travaux publiés qui retrouvent volontiers les ANCA multispécifiques dans les pathologies infectieuses chroniques. L'hypothèse est alors que la stimulation prolongée des PNN conduit à une libération chronique du contenu des granules dans un contexte cytokinique pro-inflammatoire favorisant une rupture de la tolérance [1].

6.3. Analyse globale des résultats

De manière presque identique à notre étude, Talor et coll [31] ont rapporté une cohorte de 62 patients ayant des ANCA détectés par IFI et présentant une ou plusieurs des spécificités mineures sans anticorps anti-MPO ni anti-PR3. Il s'agissait d'une étude prospective monocentrique à point de départ clinique, ce qui peut expliquer l'inversion de l'ordre des fréquences observées puisque, dans cette étude, les anticorps anti-cathepsine G devançaient les anticorps anti-BPI (36 versus 22). Ces auteurs retrouvaient également des ANCA multispécifiques avec une grande fréquence, puisque seuls 35 % de leurs sérums étaient monospécifiques. Les vascularites (maladie de Wegener, MPA ou autres vascularites) étaient en plus grand nombre dans cette étude (50 %). Néanmoins les ANCA dirigés contre les antigènes mineurs étaient préférentiellement retrouvés en dehors des vascularites : 22 des 36 sérums positifs pour les anticorps anti-cathepsine G, 12 sur 22 pour les anticorps anti-BPI, 6 sur 10 pour les anticorps anti-élastase et 10 sur 20 pour les anticorps anti-lactoferrine. Tout comme dans notre étude, pour les anticorps anti-élastase, Talor et coll ne retrouvaient pas d'addiction à la cocaïne conduisant à une destruction nasale comme il a été rapporté [37].

Dans une étude multicentrique portant sur 102 patients [38] ayant le même statut sérologique (ANCA positifs en IFI, ni anti-PR3, ni anti-MPO),

avec 79 diagnostics documentés, les anticorps dirigés contre les antigènes mineurs étaient présents dans 27,5 % des cas (28 sérums) avec aussi une plus grande fréquence des anticorps anti-BPI (13 anti-BPI, 6 anti-élastase, 5 anti-cathepsine G, 3 anti-lactoferrine et 1 association anti-BPI + anti-lactoferrine). Dans ce groupe, l'aspect de fluorescence majoritaire était de type cANCA (12), pour 9 aANCA et 7 pANCA. Ces ANCA étaient plus fréquemment retrouvés en dehors de vascularites, principalement en association avec des maladies inflammatoires intestinales ou des infections.

Nous avons donc identifié deux groupes d'âge avec une plus forte prévalence d'ANCA non PR3 non MPO : les patients de moins de dix ans et ceux de 60 ans et plus. Dans la majorité des cas (32 patients sur 73, soit 44 %) la fluorescence observée est atypique. D'autre part si l'on prend séparément les quatre cibles antigéniques mineures des ANCA (BPI, cathepsine G, élastase, lactoferrine), ce type de fluorescence est aussi prédominant dans chacune de ces catégories, mis à part pour les anticorps dirigés contre la BPI où c'est la fluorescence de type cytoplasmique qui est la plus fréquente (13 sur 26 soit 50 %). Concernant les spécificités antigéniques, près de la moitié de nos patients (36 sur 73 soit 49 %) présentait des anticorps dirigés contre la BPI, fréquence qui est certainement sous-estimée. Ces anticorps sont retrouvés de façon majoritaire dans chacune des catégories de pathologies, mis à part pour les pathologies rhumatismales où se sont les anticorps anti-élastase qui sont le plus souvent mis en évidence. Cette association des anticorps anti-élastase avec les pathologies rhumatismales n'a pas été signalée à ce jour dans la littérature, et demande confirmation dans des études prospectives.

Il est probable que les ANCA dirigés contre ces cibles mineures ne soient que les simples marqueurs d'une activation chronique des PNN dont les constituants des granules seraient libérés en permanence dans un contexte cytokinique pro-inflammatoire favorisant une rupture de tolérance. Ainsi ces ANCA dirigés contre des antigènes mineurs ou de spécificité indéterminée se voient dans un éventail de plus en plus large de maladies, avec ou sans signe de vascularite. Le clinicien doit garder présent à l'esprit la possible survenue d'ANCA dans des pathologies infectieuses chroniques, comme l'endocardite, qui ne pourraient qu'être aggravées par un traitement immunosuppresseur délivré sur la seule positivité sérologique [39].

Références

- [1] Beauvillain C, Delneste Y, Renier G, Jeannin P, Subra JF, Chevaller A. Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies: how should the biologist manage them? *Clin Rev Allergy Immunol*. 2008;35:47-58.
- [2] Mohan N, Kerr GS. Diagnosis of vasculitis. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2001;15:203-23.
- [3] Jennette JC, Falk RJ, Andrassy K, Bacon PA, Churg J, Gross WL, et al. Nomenclature of systemic vasculitides. Proposal of an international consensus conference *Arthritis Rheum*. 1994;37:187-92.
- [4] Davies DJ, Moran JE, Niall JF, Ryan GB. Segmental necrotizing glomerulonephritis with antineutrophil antibody: possible arbovirus aetiology? *Br Med J* 1982;285:606.
- [5] Hall JB, Wadham BM, Wood CJ, Ashton V, Adam WR. Vasculitis and glomerulonephritis: a subgroup with an antineutrophil cytoplasmic antibody. *Aust N Z J Med*. 1984;14:277-8.
- [6] Van der Woude FJ, Rasmussen N, Lobatto S, Wiik A, Permin H, van Es LA, et al. Autoantibodies against neutrophils and monocytes: tool for diagnosis and marker of disease activity in Wegener's granulomatosis. *Lancet*. 1985;1:425-9.
- [7] Wathen CW, Harrison DJ. Circulating anti-neutrophil antibodies in systemic vasculitis. *Lancet*. 1987;1:1037.
- [8] Wiik A. Delineation of a standard procedure for indirect immunofluorescence detection of ANCA. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1989;97(Suppl 6):12-3.
- [9] Falk RJ, Jennette JC. Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies with specificity for myeloperoxidase in patients with systemic vasculitis and idiopathic necrotizing and crescentic glomerulonephritis. *N Engl J Med*. 1988;318:1651-7.
- [10] Lüdemann J, Utecht B, Gross WL. Anti-neutrophil cytoplasm antibodies in Wegener's granulomatosis recognize an elastinolytic enzyme. *J Exp Med*. 1990;171:357-62.
- [11] Goldschmeding R, van der Schoot CE, ten Bokkell Huinink D, Hack CE, van den Ende ME, Kallenberg CGM, et al. Wegener's granulomatosis autoantibodies identify a novel diisopropylfluorophosphate-binding protein in the lysosomes of normal human neutrophils. *J Clin Invest*. 1989;84:1577-87.
- [12] Bajema IM, Hagen EC, Ferrario F, de Heer E, Buijn JA. Immunopathological aspects of systemic vasculitis. *Springer Semin Immunopathol*. 2001;23:253-65.

- [13] *Savige JA, Paspaliaris B, Silvestrini R, Davies D, Nikoloutsopoulos T, Sturgess A, et al.* A review of immunofluorescent patterns associated with anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) and their differentiation from other antibodies. *J Clin Pathol.* 1998;51:568-75.
- [14] *Stoffel MP, Csernok E, Herzberg C, Johnston T, Carroll SF, Gross WL.* Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) directed against bactericidal/permeability increasing protein (BPI): a new seromarker for inflammatory bowel disease and associated disorders. *Clin Exp Immunol.* 1996;104:54-9.
- [15] *Mahadeva R, Dunn AC, Westerbeek RC, Sharples L, Whitehouse DB, Carroll NR, et al.* Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) against bactericidal/permeability-increasing protein (BPI) and cystic fibrosis lung disease. *Clin Exp Immunol.* 1999;117:561-7.
- [16] *Kao RC, Wehner NG, Skubitz KM, Gray BH, Hoidal JR.* Proteinase 3 - A distinct human polymorphonuclear leukocyte proteinase that produces emphysema in hamsters. *J Clin Invest.* 1988;82:1963-73.
- [17] *van der Geld YM, Limburg PC, Kallenberg CGM.* Proteinase 3, Wegener's autoantigen: from gene to antigen. *J Leukoc Biol.* 2001;69:177-90.
- [18] *Wieslander J, Wiik A.* ANCA antigens: proteinase 3. In: van Venrooij WJ, Maini RN, editors. *Manual of Biological Markers of Diseases.* Dordrecht: Kluwer Academic Publishers; 1994. B7.1. p.1-9.
- [19] *Wieslander J, Wiik A.* ANCA antigens: myeloperoxidase. In: van Venrooij WJ, Maini RN, editors. *Manual of Biological Markers of Diseases.* Dordrecht: Kluwer Academic Publishers; 1994. B7.2. p.1-9.
- [20] *Weiss J, Olsson I.* Cellular and subcellular localization of the bactericidal/permeability-increasing protein of neutrophils. *Blood.* 1987;69(2):652-9.
- [21] *Weiss J, Elsbach P, Olsson I, Odeberg H.* Purification and characterization of a potent bactericidal and membrane active protein from the granules of human polymorphonuclear leukocytes. *J Biol Chem.* 1978;253:2664-72.
- [22] *Segelmark M, Westman K, Wieslander J.* How and why should we detect ANCA? *Clin Exp Rheumatol.* 2000;18:629-35.
- [23] *Zhao MH, Jones SJ, Lockwood CM.* Bactericidal/permeability increasing protein (BPI) is an important antigen for anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies (ANCA) in vasculitis. *Clin Exp Immunol.* 1995;99:49-56.
- [24] *Schultz H, Weiss J, Carroll SF, Gross WL.* The endotoxin-binding bactericidal/permeability-increasing protein (BPI): a target antigen of autoantibodies. *J Leukoc Biol.* 2001;69:505-12.
- [25] *Zhao MH, Lockwood CM.* Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies with specificity other than PR3 and MPO (X-ANCA). In: Peter JB, Shoenfeld Y, editors. *Autoantibodies.* Amsterdam: Elsevier; 1996. p 68-73.
- [26] *Coremans IE, Hagen EC, Daha MR, van der Woude FJ, van der Voort EA, Kleijburg-van der Keur C, et al.* Antilactoferrin antibodies in patients with arthritis are associated with vasculitis. *Arthritis Rheum.* 1992;35:1466-75.
- [27] *Zhao MH, Lockwood CM.* Azurocidin is a novel antigen for anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) in systemic vasculitis. *Clin Exp Immunol.* 1996;103:397-402.
- [28] *Gallin MY, Jacobi AB, Büttner DW, Schönberger Ö, Marti T, Erttmann KD.* Human autoantibody to defensin: disease association with hyperactive onchocerciasis (Sowda). *J Exp Med.* 1995;182:41-7.
- [29] *Kain R, Matsui K, Exner M, Binder S, Schaffner G, Sommer EM, et al.* A novel class of autoantigens of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in necrotizing and crescentic glomerulonephritis: the lysosomal membrane glycoprotein h-lamp-2 in neutrophil granulocytes and a related membrane protein in glomerular endothelial cells. *J Exp Med.* 1995;181:585-97.
- [30] *Kain R, Exner M, Brandes R, Ziehermayr R, Cunningham D, Alderson CA, et al.* Molecular mimicry in pauci-immune focal necrotizing glomerulonephritis. *Nat Med.* 2008;14:1088-96.
- [31] *Talor MV, Stone JH, Stebbing J, Barin J, Rose NR, Burek CL.* Antibodies to selected minor target antigens in patients with anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA). *Clin Exp Immunol.* 2007;150:42-8.
- [32] *Zhao MH, Jayne DRW, Ardiles LG, Culley F, Hodson ME, Lockwood CM.* Autoantibodies against bactericidal/permeability-increasing protein in patients with cystic fibrosis. *Q J Med.* 1996;89:259-65.
- [33] *Halbwachs-Mecarelli L, Nusbaum P, Noël LH, Reumaux D, Erlinger S.* Antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) directed against cathepsin G in ulcerative colitis, Crohn's disease and primary sclerosing cholangitis. *Clin Exp Immunol.* 1992;90:79-84.
- [34] *Wiik A, Stummann L, Kjeldsen L, Borregaard N, Ullman S, Jacobsen S, et al.* The diversity of perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies (pANCA) antigens. *Clin Exp Immunol.* 1995;101(Suppl 1):15-7.

[35] Næssberger L, Jonsson H, Sjöholm AG, Sturfelt G, Heubner A. Circulating anti-elastase in systemic lupus erythematosus. *Lancet*. 1989;1:509.

[36] Roozendaal C, Kallenberg CGM. Are anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) clinically useful in inflammatory bowel disease (IBD)? *Clin Exp Immunol*. 1999;116:206-13.

[37] Wiesner O, Russell KA, Lee AS, Jenne DE, Trimarchi M, Gregorini G, et al. Antineutrophil cytoplasmic antibodies reacting with human neutrophil elastase as a diagnostic marker for cocaine-induced midline destructive lesions but not autoimmune vasculitis. *Arthritis Rheum*. 2004;50:2954-65.

[38] Burban M, André C, Chrétien P, Desplat-Jégo S, Dubucquoi S, Escande A, et al. Clinical significance of ANCA specificity other than proteinase 3 and myeloperoxidase. *Autoimmunity Rev*. 2004;3(suppl 2):45.

[39] Subra JF, Michelet C, Laporte J, Carrere F, Reboul P, Cartier F, et al. The presence of cytoplasmic antineutrophil cytoplasmic antibodies (C-ANCA) in the course of subacute bacterial endocarditis with glomerular involvement, coincidence or association? *Clin Nephrol*. 1998;49:15-8.



Quand et comment rechercher les ANCA-MPO et -PR3 ? Comment en interpréter les résultats ? Expérience des laboratoires d'immunologie des CHU de Lille et Marseille

Sylvain DUBUCQUOI¹, Sophie DESPLAT-JÉGO²

¹ Laboratoire d'immunologie du CHRU de Lille, Centre de Biologie-Pathologie, Bd Jules Leclercq, 59037 Lille Cedex

² Laboratoire d'immunologie, Pôle de Biologie, Assistance Publique – Hôpitaux de Marseille, Hôpital de La Conception, 147 Bd Baille, 13385 Marseille Cedex 05

Abréviations

Ab : antibody
Ac : anticorps
ANA : antinuclear antibody
aANCA : ANCA atypiques
ANCA : antineutrophil cytoplasmic antibody
ASCA : anti-*Saccharomyces cerevisiae* antibody
BPI : bactericidal/permeability-increasing protein
CV : coefficient de variation
EL : élastase
ELISA : enzyme-linked immunosorbent assay
GNRP : glomérulonéphrite rapidement progressive
HEp-2 : Human Epithelioma 2
IFI : immunofluorescence indirecte
MBG : membrane basale glomérulaire
MICI : maladie inflammatoire chronique de l'intestin
MPA : micropolyangéite
MPA-R : micropolyangéite limitée au rein
MPO : myéloperoxydase
NANA : neutrophil antinuclear antibody
NSA : neutrophil specific antibody
PR3 : protéinase 3
ROC : receiver operating characteristic
SCS : syndrome de Churg et Strauss
WG : Wegener granulomatosis
xANCA : ANCA associés aux maladies inflammatoires du tube digestif

1. Situation

Si toutes les cibles des ANCA ne sont pas identifiées, un certain nombre d'entre elles se précisent aujourd'hui. Elles encouragent d'ailleurs à évoquer les « Neutrophil Specific Antibodies (Ab) » (NSA) plus que les « Anti Neutrophil Cytoplasmic Ab » (ANCA), car il est rapporté que certains anticorps (Ac) reconnaissent spécifiquement des antigènes localisés dans le noyau des polynucléaires neutrophiles et non dans leur cytoplasme.

Les indications de la recherche des ANCA se sont également précisées et surtout élargies, complexifiant encore l'interprétation des résultats pour le biologiste auquel le contexte de prescription n'est que rarement précisé. Plus que jamais, la recherche des Ac anti-myéloperoxydase (ANCA-MPO) et anti-protéinase 3 (ANCA-PR3) est indissociable de l'immunofluorescence indirecte sur polynucléaires neutrophiles fixés par l'éthanol. En effet l'interprétation repose sur la combinaison des résultats rendus par ces deux approches. Dans les cas complexes, cette combinaison peut guider le biologiste dans l'orientation des examens complémentaires à proposer face aux interférences et discordances qui se font jour avec l'élargissement de la prescription clinique.

Aux méthodes de recherche conventionnelles en

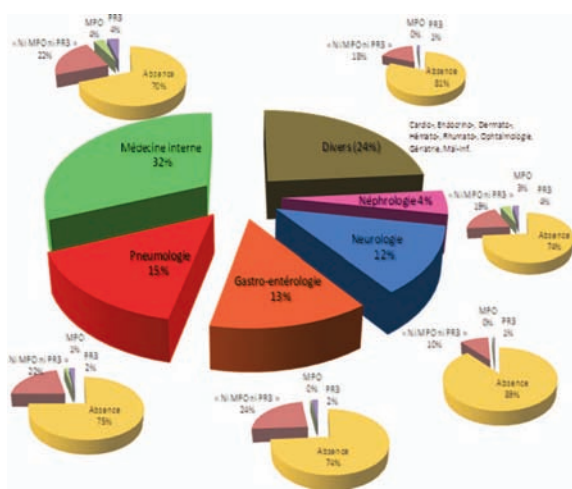
microplaque se sont ajoutés des tests plus pratiques à utiliser dans le cadre de l'urgence, voire au « coup par coup ». Le problème de la source antigénique reste toutefois entier, et encourage le biologiste à rester vigilant dans son choix de méthodes.

Enfin, à une époque où la Qualité devient opposable, des réunions internationales de « préconisation » conduisent à la publication de recommandations à l'usage des biologistes recherchant les ANCA. Nous verrons dans quelle mesure elles sont applicables à notre routine... avec les moyens dont nous disposons. Rappelons que les objectifs d'un laboratoire d'immunologie sont : 1- de dépister les ANCA circulants dans le sérum des patients, 2- d'en évaluer le titre et 3- d'en identifier la cible antigénique. L'évaluation du pouvoir pathogène des ANCA chez un patient donné reste du domaine de la recherche mais pourrait venir compléter l'exploration des ANCA dans les prochaines années.

2. ANCA : qui sont les prescripteurs ?

A Lille, cinq services cliniques (Médecine interne,

Figure 1 - Répartition de la prescription des ANCA et de leurs résultats en fonction des différents services cliniques du CHRU de Lille en 2008



L'essentiel des 2 500 prescriptions d'ANCA est le fait de 5 services cliniques : seuls 3 sont concernés par les syndromes pneumorénaux (Médecine Interne, Pneumologie, Néphrologie), alors que la prescription des ANCA par les services de Neurologie et Gastro-Entérologie semble a priori moins évidente (pour le biologiste).

En arrière-plan est présentée la répartition des résultats en fonction des mêmes services prescripteurs. Globalement 4 % des prescriptions aboutissent à l'identification d'ANCA MPO ou PR3, alors que plus de 20 % des résultats positifs de l'immunofluorescence sur polynucléaires neutrophiles fixés par l'éthanol semblent liés à des interférences ou des spécificités différentes de MPO et PR3.

Comment le biologiste doit-il interpréter ces derniers résultats quand il semble que le clinicien n'est pas toujours bien informé des limites de nos approches ?

Pneumologie, Gastro-entérologie, Neurologie et Néphrologie... par ordre décroissant) prescrivent les trois quarts des 2 500 demandes qui nous sont adressées annuellement (figure 1). Globalement 76 % des recherches nous amènent à conclure à l'absence d'ANCA et 4 % à la présence d'ANCA-MPO ou -PR3 (variation de 0 à 4 % pour ces cinq principaux prescripteurs). Près de 20 % des résultats positifs de l'immunofluorescence indirecte (IFI) sur polynucléaires neutrophiles s'associent à l'absence d'ANCA-MPO ou PR3 recherchés par ELISA, laissant suspecter des interférences ou des spécificités non conventionnelles, que le biologiste devra expliciter au clinicien.

A Marseille, 10 346 sérums ont été traités pour prescription d'ANCA, concernant 7 805 patients, entre le 01/10/2006 et le 30/09/2009. Cinquante cinq pourcents des patients étaient suivis en Médecine interne, 9,9 % en Néphrologie, le reste en Dermatologie, Pédiatrie, Neurologie et Hépatogastro-entérologie. Sur les 10 346 IFI réalisées, 1 578 ont donné des résultats positifs (1 014 C-ANCA, 366 P-ANCA et 198 P-ANCA atypiques). Parmi les 10 346 sérums, 2 312 ont été testés en ELISA anti-MPO et anti-PR3 : 438 se sont révélés réagir contre la PR3 (dont 43 supérieurs au dernier point de gamme et 107 proches de la valeur seuil), 153 contre la MPO (dont 6 supérieurs au dernier point de gamme et 21 proches de la valeur seuil). Au total, dans notre expérience 85,8 % des sérums testés en IFI ont donné des résultats négatifs, et 5,7 % ont donné des résultats positifs en IFI et en ELISA anti-PR3 ou anti-MPO.

3. ANCA : quelles cibles ? Lesquelles identifier en pratique ?

Les cibles des ANCA sont nombreuses et toutes ne sont pas connues. Il apparaît qu'elles peuvent se nicher dans le cytoplasme mais aussi dans le noyau des polynucléaires neutrophiles. Aujourd'hui, il faut retenir que seule l'identification des ANCA-MPO et des ANCA-PR3 est primordiale pour la prise en charge du patient, parfois dans un contexte d'urgence. L'identification des autres cibles (ou, plus souvent, le simple fait de les suspecter) aidera le biologiste dans son interprétation, et rassurera le clinicien quant à l'absence de spécificités associées aux vascularites.

4. ANCA : quand faire l'ELISA à la recherche des ANCA-MPO et -PR3 ?

Ces recherches seront engagées dès que l'on observera un aspect de fluorescence cytoplasmique ou (péri)nucléaire sur polynucléaires neutrophiles fixés par l'éthanol. On retiendra néanmoins que dans cer-

Tableau I - Prévalence des C-ANCA, P-ANCA, ANCA-MPO et ANCA-PR3 au cours des différentes vascularites (Extrait de [2])

| | C-ANCA (%) | P-ANCA (%) | PR3 (%) | MPO (%) | C-ANCA-PR3 (%) | P-ANCA-MPO (%) |
|--------------------|------------|------------|---------|---------|----------------|----------------|
| Sensibilité | | | | | | |
| Wegener | 64 | 21 | 66 | 24 | 73 | - |
| MPA | 23 | 58 | 26 | 58 | - | 67 |
| GNRP idiopathique | 36 | 45 | 50 | 64 | - | 82 |
| Spécificité | 95 | 81 | 87 | 91 | 99 | 99 |

* La spécificité a été définie à partir de 184 patients souffrant de maladies inflammatoires sans ANCA et de 740 sujets sains.

Selon [3] et [4] près de 70 % des vascularites de Churg et Strauss sont associées à la présence d'ANCA ; dans 60 % des cas il s'agit de P-ANCA-MPO et dans 10 % de C-ANCA-PR3.

MPA : micropolyangéite. GNRP : Glomérulonéphrite rapidement progressive.

Note de l'auteur (SD) : pour mémoire, ces chiffres de sensibilité et spécificité sont éminemment dépendants de la cohorte étudiée et ne donnent qu'une valeur indicative qui est difficilement transposable dans la pratique de chacun.

tains cas, le biologiste peut être amené à rechercher les ANCA-MPO et -PR3 alors que l'IFI est négative (patients connus, sous traitement immunosuppresseur ou non...) [1].

Quelle que soit son expérience de lecture, conduisant le biologiste à préciser les aspects de fluorescence (« cytoplasmique à renforcement interlobulaire » ; « périnucléaire » ou « nucléaire » ; « en fin liseré » ; « atypique »...) il est légitime de rechercher et les anti-MPO et les anti-PR3. Il peut en effet arriver que les ANCA-MPO soient associés à un aspect de fluorescence cytoplasmique, alors qu'on attend conventionnellement un aspect périnucléaire. Inversement pour les ANCA-PR3 : ils s'associent généralement à un aspect de fluorescence cytoplasmique à renforcement interlobulaire des polynucléaires neutrophiles fixés par l'éthanol mais, de façon anecdotique, ces Ac peuvent donner un aspect périnucléaire.

Le tableau I extrait de [2] rapporte quelques données permettant d'associer la fréquence des différents aspects de fluorescence et des ANCA-MPO et ANCA-PR3 avec les différentes vascularites ou atteintes rénales qui leurs sont associées.

5. Quelles méthodes pour rechercher les ANCA-MPO et -PR3 ?

5.1. Méthodes immuno-enzymatiques

Les plus conventionnelles restent celles utilisant la microplaque ELISA. On verra plus loin les qualités devant s'associer aux antigènes pour optimiser les recherches des ANCA-MPO et -PR3, et on retiendra

pour l'instant que l'ensemble des coffrets commerciaux propose un conjugué anti-IgG. On a rapporté quelques vascularites associées à la présence d'IgA ANCA [5]. En pratique courante, ces événements restent extrêmement rares et ne justifient pas d'investir dans la mise en place de « méthodes maison » (puisque aucun fournisseur ne distribue de réactifs calibrés pour cette recherche). Il peut être utile de se souvenir qu'il existe (aussi) des arguments histologiques pour compenser les défauts de la biologie [2].

Aux méthodes en microplaque, on associera les approches automatisées, permettant des dosages au coup par coup (Phadia, Orgentec...). Leurs performances sont globalement comparables à celles des microplaques ELISA (données personnelles).

Depuis quelques années sont apparues d'autres approches technologiques : immunodot, fluorimétrie en flux, immunocapture.

5.2. Immunodot

L'approche par immunodot semble adaptée aux petites séries, au coup par coup, à l'urgence [6]. Elle associe la recherche des Ac anti-membrane basale glomérulaire (MBG). Tout cela pour un coût raisonnable. Il a été rapporté toutefois que, parce que la conformation des antigènes serait altérée sur les membranes de nitrocellulose, les dots seraient moins sensibles. Tout résultat négatif justifierait un contrôle par IFI et ELISA [4].

Il faut convenir que cette pratique de contrôle relève quelque peu du paradoxe. En effet est-il légitime de les utiliser dans le contexte (anxiogène) de l'urgence

si leur fiabilité est mise en doute ? Il faut en effet reconnaître que dans le contexte de l'urgence, la recherche d'ANCA est délicate : disponibilité du personnel pour la gestion d'un unique sérum, expérience de lecture pour la fluorescence, réalisation de deux tests ELISA avec gamme de calibration et contrôles appropriés (6 points de gamme en double; 2 contrôles, positif et négatif, en début et fin de série; coût moyen du puits TTC : 2,40€¹). En termes comptables, cette approche a donc un poids non négligeable (hors temps technique) estimée à 38,4€². Surtout depuis que les cliniciens savent que même un laboratoire d'immunologie est capable de rendre des résultats rapidement, et ne se privent pas de nous solliciter. Dans nos services, en moyenne, une prescription par semaine « d'ANCA en urgence » s'inscrit en dehors de la routine. Les résultats suivent globalement ceux associés aux prescriptions « classiques » (voir la figure 1), avec globalement la même fréquence de résultats. On se souviendra en effet que tout sérum géré dans le contexte de l'urgence présente le même risque d'interférences qu'un quelconque sérum issu de la routine (voir plus bas le chapitre consacré aux difficultés d'interprétation de l'IFI).

L'approche par immunodot « gomme » donc nombre des contingences associées aux méthodes conventionnelles de recherche (IFI et ELISA) : elle ne requiert pas un personnel « ultra »-compétent comme pour l'IFI ; elle permet de réduire les coûts, proposant une approche qualitative (sans calibration) ni contrôle ajouté (coût moyen pour la recherche des 3 spécificités : 12,40 €³) ; les résultats sont rendus rapidement (1 h 30) ; elle combine la recherche des ANCA-MPO, -PR3 et des Ac anti-membrane basale glomérulaire en un seul test ; elle reste insensible aux interférences de certains Ac révélés par l'IFI.

Maintenant s'il apparaît qu'un résultat négatif d'une technique d'immunodot peut être contredit par les méthodes conventionnelles, il serait urgent de repenser la question du bénéfice de cette approche. Dans notre pratique, tout sérum adressé en urgence est également analysé dans la série de routine suivante. Ce qui nous permet d'assurer une veille vigilante sur la cohérence des résultats rendus par les différentes méthodes que nous employons, et d'adapter nos choix en cas de doute ou flagrant délit d'incohérence. En plus, tout résultat positif rendu par la

méthode d'immunodot peut être « quantifié » par la méthode de routine pour juger de l'évolution des titres avec l'introduction des traitements dont le patient bénéficiera (voir plus loin).

5.3. Fluorimétrie en flux

Les antigènes MPO et PR3 peuvent être aussi présentés à la surface de particules, et leur interaction avec des Ac sériques mesurée par fluorimétrie en flux grâce à la technologie Luminex®. Si certaines approches présentent les avantages de l'automatisation, avec une bonne reproductibilité et globalement une bonne corrélation avec les résultats ELISA [4], il faut disposer du fluorimètre de lecture dont l'utilisation est généralement restreinte aux coffrets utilisant ce type de technologie (automate souvent « fermé »). Dans certains cas la calibration, d'une durée de près d'un mois, réduit le coût de cette approche. Toutefois celle-ci s'accommodant des dosages combinés par profils, les Ac anti-MBG seront systématiquement recherchés alors que les justifications cliniques restent rares (les résultats positifs aussi !). Les frais de ces mesures s'ajoutent donc à ceux des ANCA-MPO et -PR3.

Si la gestion de l'urgence par cette méthode peut être meilleure que celle de la microplaque ELISA, en fonction des fournisseurs, elle peut rester moins facile à mettre en place que celles proposées par l'immunodot ou les automates permettant une approche au « coup par coup » (type Alegria® d'Orgentec, ou ImmunoCAP® 250 de Phadia). Enfin il a été rapporté que la fixation chimique de l'Ag sur son support conduirait aussi à la dénaturation partielle de la protéine avec masquage de certains épitopes [4].

5.4. Immunocapture

Certains fournisseurs proposent enfin des méthodes d'immunocapture pour la recherche des ANCA-PR3. Avant l'incubation avec le sérum du malade, une solution antigénique de PR3 est déposée sur une microplaque dont les puits sont recouverts d'Ac monoclonal murin anti-PR3 qui n'entrent pas en compétition avec les autoanticorps du malade. L'antigène PR3 ne « s'écrasant » pas au fond du puits, ses épitopes seraient rendus plus accessibles aux autoanticorps présents dans le sérum et les résultats de ces tests mieux corrélés à l'évolution clinique [7, 8]. La diffusion de ces tests restant limitée, il est difficile d'en mesurer encore toute la portée.

5.5. Quelle méthode choisir ?

Le choix est évidemment guidé par les « essais réac-

¹ Ce coût est donné à titre indicatif. Il correspond au coût moyen des tests ELISA ANCA-MPO et ANCA-PR3 (à l'unité, TTC) proposés lors de l'appel d'offre 2009-2011 des réactifs et consommables au CHRU de Lille.

² Coût basé sur celui des tests ELISA.

³ Ce coût est donné à titre indicatif. Il correspond au coût moyen des immunodots (à l'unité, TTC) proposé lors de l'appel d'offre 2009-2011 des réactifs et consommables au CHRU de Lille.

tifs » que chacun a la responsabilité de conduire... à condition de disposer d'informations cliniques permettant de sélectionner judicieusement les sérums à tester (voir plus bas). Faute de quoi, une évaluation régulière, par une participation assidue aux programmes de Contrôles de Qualité Externes, apporte également des éléments qui pèsent sur le choix des coffrets. A cela s'ajoute nécessairement les contingences techniques, économiques, l'expression potentielle des choix des cliniciens...

Même si l'ensemble des coffrets du marché présentent des performances honorables, la figure 2 illustre le fait que pour les ANCA (aussi) on ne peut attendre de corrélation entre les résultats rendus par des coffrets de fournisseurs différents. L'interprétation que le biologiste associera à tout résultat chiffré en rendra compte, surtout dans le cadre du suivi de patients souffrant de vascularite ou glomérulonéphrite. Il pourrait même être prudent de rendre des résultats semi-quantitatifs (voir plus bas les commentaires des experts), et d'évoquer la « recherche » d'ANCA plus que leur dosage...

6. Manque de corrélation entre les résultats rendus par différents coffrets commerciaux : la qualité des antigènes MPO et PR3 en question ?

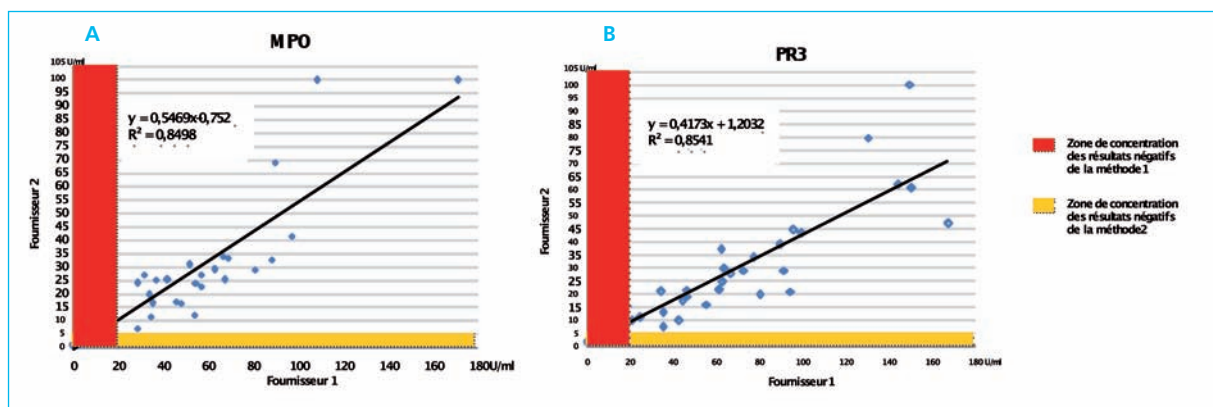
Il a été montré que les Ac associés aux vascularites et glomérulonéphrites reconnaissent des épitopes conformationnels [6]. Il est donc primordial de préserver ces derniers, surtout pour la PR3, tant lors de la production de la solution antigénique que lors de l'étape de revêtement des puits.

Pour la MPO, plusieurs études ont rapporté que les Ac pouvaient interagir avec différents épitopes, dont certains seulement sont conformationnels [4]. Les processus de maturation protéique (ceux qui se déroulent dans l'appareil de Golgi, inexistant chez les espèces bactériennes) semblent donc moins importants à la génération d'épitopes capables d'interagir avec les anticorps des malades. L'utilisation de protéines recombinantes est donc rendue possible pour la génération de tests recherchant les ANCA MPO. Inversement, la part des épitopes conformationnels de la PR3 semble majeure pour une bonne détection des Ac présents chez le malade [4]. La production de protéine recombinante comme source antigénique de PR3 ne semble donc pas appropriée pour la recherche des Ac sériques dirigés contre une telle cible.

Même si ces éléments de production antigénique ont été bien intégrés par l'ensemble des fournisseurs de réactifs, on peut regretter l'absence de standard international permettant d'étalonner de façon homogène les différents coffrets, et de comparer les résultats quantitatifs.

A cela s'ajoutent d'autres mécanismes à l'origine de

Figure 2 - Exemple de corrélation obtenue en 2008 lors de la comparaison de tests ELISA recherchant les ANCA-MPO et ANCA-PR3 dans le laboratoire lillois



Outre les seuils différents (20 U/ml pour la méthode 1 ; 5 U/ml pour la méthode 2), les pentes des droites de tendance nous indiquent que la méthode 2 donne des résultats globalement divisés par deux par rapport à la méthode 1, que l'on s'intéresse aux ANCA-MPO ou -PR3. Pour ces deux coffrets, la dispersion des points est relativement importante puisque les coefficients de détermination (R^2) restent inférieurs à 0,90 montrant donc une corrélation modeste entre les résultats chiffrés. Enfin, pour les ANCA-MPO, la méthode 1 peut rendre des résultats positifs là où la méthode 2 les rend négatifs. Inversement pour les ANCA-PR3.

Associés à la mesure de l'imprécision d'une méthode de dosage (imprécision évaluée au quotidien par la gestion des contrôles de qualité et la mesure des coefficients de variation), ces données relativisent la portée des résultats chiffrés que les laboratoires peuvent rendre. Le clinicien doit être informé : nos méthodes de dosage ne nous permettent de rendre que des résultats qualitatifs (présence ou absence) ou grossièrement semi-quantitatifs ! Ici, seuls les résultats de deux fournisseurs sont présentés.

discordances. Ainsi, il a été rapporté que certaines préparations commerciales de MPO pouvaient être contaminées par la lactoferrine [9]. De même, il faut se rappeler que certains faux positifs pourraient s'expliquer par la présence, dans le sérum du malade, d'anticorps dirigés contre les protéines alimentaires. Ceux-ci seraient alors capables de se lier aux protéines bovines utilisées comme de agents saturation des puits [1]. Enfin, la bonne pratique voudrait qu'un test ELISA soit réalisé en parallèle avec un « témoin-échantillon », évaluant la réactivité du sérum vis-à-vis de puits non recouverts d'antigène. Cette approche est idéale pour détecter les interférences liées aux complexes immuns circulants ou aux hypergammaglobulinémies polyclonales. Si cette mesure est indispensable pour la mise en œuvre des tests « maison », peu de fournisseurs de réactifs commerciaux proposent de tels puits uniquement recouverts de l'agent de saturation. La mise en pratique est donc difficile.

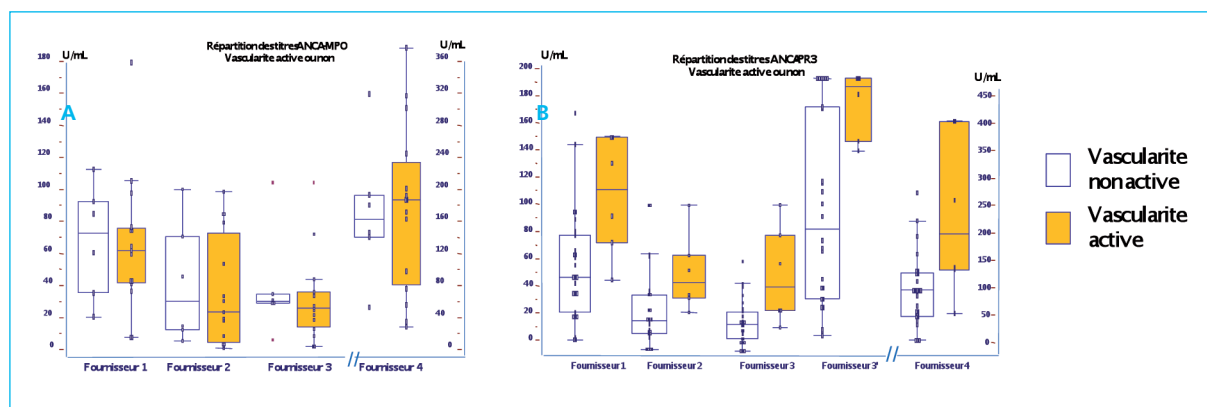
7. Corrélation entre les titres d'ANCA-MPO ou ANCA-PR3 avec l'activité de la maladie. Quel crédit apporter aux résultats chiffrés des dosages ?

On vient de voir que plusieurs épitopes de la myélo-

peroxydase peuvent être la cible des ANCA-MPO la réponse anticorps est donc polyclonale. Ce phénomène semble expliquer l'absence de corrélation des taux d'ANCA-MPO avec l'évolution clinique des vascularites/glomérulonéphrites, que la mesure soit réalisée par immunofluorescence ou par les tests ELISA. Si certaines populations d'anticorps peuvent disparaître sous l'effet du traitement, d'autres pourraient persister et expliquer la persistance des titres et aspects d'IFI et des résultats de la recherche par ELISA. Avec potentiellement des discordances entre les coffrets, selon les épitopes que ceux-ci exposent. La figure 3A produite à partir d'évaluations conduites en 2008 dans le laboratoire lillois illustre un peu ces données.

En revanche, la révélation des ANCA-PR3 semble plus dépendante de la préservation d'épitopes conformationnels de l'antigène cible. Plus encore, il semble que la présence d'Ac anti-PR3 stabilise in vivo la protéinase 3 et ralentisse son catabolisme, participant peut-être à la physiopathologie de la maladie. Les variations des titres seraient ainsi mieux corrélées avec l'évolution de la maladie. Les mesures obtenues dans le laboratoire lillois vont dans ce sens (figure 3B). Toutefois, l'évolution du titre d'anticorps est propre à chaque patient et dans l'expérience marseillaise environ la moitié des patients suivis gardent des taux d'anti-PR3 constants quelle que soit l'activité de leur maladie et quel que soit le traitement

Figure 3 - Répartition des titres d'ANCA-MPO [A] et d'ANCA-PR3 [B] en fonction de l'activité clinique de la vascularite



[A] Les valeurs d'ANCA-MPO se distribuent dans des gammes de mesures comparables que les patients soient en phase active (n = 5) ou quiescente (n = 13) de la maladie, et ce quel que soit le fournisseur de réactifs. La médiane des titres d'immunofluorescence a été mesurée au 1/80 dans les deux populations.

[B] Pour les patients souffrant de la maladie de Wegener, les titres médians ont été évalués au 1/160 pour les patients en phase active (n = 6) et au 1/80 pour les patients en phase quiescente (n = 23). La mesure des ANCA-PR3 donne des concentrations plus élevées chez les patients en phase active, là encore quel que soit le coffret évalué. On appréciera encore que les gammes de mesure sont différentes entre chaque coffret, limitant les comparaisons des résultats entre les fournisseurs.

L'évaluation a été réalisée en 2008 lors de la comparaison de coffrets ELISA recherchant les ANCA-MPO et ANCA-PR3 au sein de notre laboratoire. L'activité clinique (maladie en « poussée » ou « en rémission ») a été évaluée à partir des données extraites du courrier dicté par le clinicien dans les suites du dosage, mais aussi du syndrome inflammatoire mesuré par le dosage de la CRP et de la fonction rénale évaluée par la mesure de la créatininémie et de l'urémie, dosages concomitants à la recherche des ANCA. Les résultats de quatre fournisseurs sont présentés ici. Pour les PR3-ANCA, le fournisseur 3 a proposé l'évaluation de deux coffrets différents (3 et 3').

mis en place. L'autre moitié des patients voit ses titres varier avec l'activité de la maladie. En résumé, il ne semble pas qu'il y ait pas grand d'intérêt à réaliser un suivi sur les titres d'anti-MPO et que s'il existe pour les anti-PR3, il ne concerne qu'une fraction de patients atteints de granulomatose de Wegener.

8. ANCA-MPO ou -PR3 sans vascularite ou glomérulonéphrite : quels diagnostics différentiels ?

Interférences avec la recherche des ANCA-MPO ; des ANCA-PR3 ; des ANCA-MPO et des ANCA-PR3.

Alors que les résultats rendus par l'approche combinée de l'immunofluorescence et de l'ELISA sont cohérents, il peut arriver que le clinicien nous interroge sur un résultat d'ANCA-MPO ou -PR3 qui ne cadre pas avec le contexte clinique : objectivement le patient ne présente pas de signe de vascularite. On se souviendra alors que de nombreuses maladies à composante inflammatoire (connectivites, maladies inflammatoires chroniques de l'intestin) et infectieuse (endocardites notamment), peuvent s'associer

Tableau II - Pathologies (autres que vascularites et glomérulonéphrites) associées aux ANCA

| Maladies associées aux ANCA | Type d'ANCA |
|---|--|
| Maladies infectieuses Endocardite Bronchopneumopathie, mucoviscidose | C-ANCA-PR3 C-ANCA-BPI |
| Maladies inflammatoires/ auto-immunes du tube digestif (cholangites sclérosantes) Hépatites auto-immunes Polyarthrite rhumatoïde Lupus Neutropénie auto-immune Syndrome de Felty Syndrome de Sweet | P-ANCA, xANCA C-ANCA (BPI, PR3) aANCA xANCA P-ANCA (MPO) aANCA aANCA aANCA aANCA |
| Causes iatrogènes, toxiques Antithyroïdiens Cocaïne | P ANCA (MPO) ³ aANCA (EL) |

aANCA : ANCA atypiques. xANCA : P-ANCA associés aux maladies inflammatoires du tube digestif

BPI : Bactericidal/Permeability-Increasing protein ; EL : élastase

à la présence de telles spécificités (tableau II). De même, certains traitements (antithyroïdiens) ou substances toxiques (cocaïne) peuvent être associés à l'apparition d'ANCA-MPO, d'ANCA-PR3 ou d'autres

spécificités (voir plus bas).

On se souviendra également qu'il est décrit que les facteurs rhumatoïdes peuvent interférer avec nombre de techniques immunologiques. C'est la coexistence d'ANCA-MPO et -PR3 chez le même patient qui doit alors placer le biologiste sur la piste des interférences.

9. Une majorité de résultats positifs de l'immunofluorescence sur substrat de polynucléaires neutrophiles fixés par l'éthanol ne s'accompagne pas d'ANCA-MPO ou -PR3 recherchés par ELISA.

Comment distinguer les résultats pertinents des interférences ? Comment guider le clinicien dans son interprétation par un commentaire approprié ?

Dans le laboratoire lillois, près de 20 % des tests d'immunofluorescence ne sont pas suivis de résultats positifs d'ANCA-MPO et -PR3 par ELISA. Il est indispensable d'éclairer le clinicien dans l'interprétation de ces résultats, pour éviter toute confusion aux conséquences préjudiciables pour le malade. En effet, il faut proscrire de tout commentaire les termes de « présence d'ANCA » alors que les ANCA-MPO et -PR3 sont absents. Le risque est effectivement de discréditer la recherche des ANCA (sinon les biologistes), en leur associant une bien piètre spécificité. Nous allons donc envisager les différentes situations et les moyens d'apporter un éclairage à l'interprétation.

Dans un contexte « fluorescence positive / ELISA négatifs », quelle peut être l'origine de tels résultats ? Devant une telle situation, une segmentation artificielle des compartiments du polynucléaire neutrophile peut aider le biologiste à s'y retrouver. On se souvient en effet que les aspects de fluorescence sur polynucléaires neutrophiles fixés par l'éthanol peuvent être cytoplasmiques ou (péri)nucléaires.

9.1. Les aspects de fluorescence cytoplasmiques sans ANCA-PR3 (ni -MPO !) sont les plus faciles à interpréter

La fluorescence est souvent moins « granulaire », sans renforcement interlobulaire. On la qualifie d'« atypique ». Ces aspects peuvent être liés à la présence d'Ac dirigés contre différents antigènes des granules primaires, notamment la Bactericidal/Permeability-Increasing (BPI) protein ou encore l'élastase. Le tableau II donne quelques

cibles de ces Ac et les pathologies dans lesquelles on peut les rencontrer.

De manière générale, on retiendra que le contexte clinique amenant à la prescription est généralement peu évocateur de vascularite. C'est l'inflammation des muqueuses ou un traitement médicamenteux qui expliquera l'émergence de telles réactivités. On se souviendra néanmoins que, de façon anecdotique, de véritables vascularites ou glomérulonéphrites s'associeront à la présence d'Ac anti-élastase [10], et que ceux-ci peuvent être isolés.

Des coffrets proposent une approche par profil, c'est-à-dire qu'ils mesurent dans un même temps la réactivité sérique vis-à-vis de la BPI, l'élastase, l'azurocidine, la lactoferrine, le lysozyme, la glucuronidase (Euroimmun, Orgentec...).

On se souviendra aussi que le cytoplasme des neutrophiles contient évidemment d'autres antigènes qui peuvent être la cible d'Ac, notamment ceux dirigés contre les protéines du cytosquelette (actine, vimentine...) ou contre des antigènes mitochondriaux. Si la prescription du clinicien inclut les analyses qui permettent de dépister ces Ac « interférents » (Ac antinucléaires/anti-cytoplasme sur cellules HEp-2 ou triple substrat pour les spécificités associées aux hépatopathies) c'est une validation « transversale » du dossier patient (celle qui vise à la synthèse de tous les éléments biologiques mettant en valeur la cohérence de l'ensemble des résultats) qui fera la lumière pour l'interprétation.

9.2. Les aspects de fluorescence (péri)nucléaires sans ANCA-MPO (ni -PR3)

On vient de voir que l'interprétation d'une recherche d'ANCA, associant IFI et ELISA, s'enrichit de l'interprétation de la recherche d'Ac associés aux connectivites (sur HEp-2) voire aux hépatopathies (sur triple substrat). Si c'est vrai pour les « C-ANCA », ça l'est encore plus pour les P-ANCA, dont l'interprétation est délicate quand ils ne s'associent pas aux ANCA-MPO (ou ANCA-PR3). En effet, on se souvient que l'aspect de fluorescence périnucléaire peut révéler des Ac qui reconnaissent des antigènes qui se localisent dans le cytoplasme, au pourtour immédiat du noyau. D'autres antigènes, cibles d'Ac, peuvent se localiser dans le noyau lui-même. Les Ac antinucléaires (ANA) vont évidemment les cibler.

Certains de ces ANA seront associés aux connectivites, pathologies qui ne doivent pas être confondues avec les vascularites. Même si certaines connectivites s'associent à une composante d'inflammation de la paroi vasculaire (polyarthrite rhumatoïde) ou une atteinte rénale (lupus), c'est indépendamment de la présence d'ANCA-MPO ou -PR3 et le clinicien

doit l'interpréter comme tel. Le biologiste doit l'y aider !

Deux approches complémentaires vont pouvoir distinguer les Ac qui ciblent les antigènes nucléaires des antigènes cytoplasmiques du neutrophile. Ce sont des examens qui vont s'ajouter aux tests que l'on a déjà décrits. Ils n'ont pas été prescrits par le clinicien, mais ils sont utiles à l'interprétation qu'il va faire des résultats. Il est donc légitime de les ajouter à la prescription.

9.2.1. L'expérience montre que les interférences par les ANA sont les plus fréquentes.

On a déjà vu comment l'immunofluorescence sur cellules HEp-2 va aider l'interprétation d'un résultat de fluorescence nucléaire des polynucléaires neutrophiles alors que les tests ELISA restent négatifs. Dans nos services marseillais et lillois, une telle combinaison de réactivités (P-ANCA ; ELISA négatifs ; IFI HEp-2 positive, aspect homogène ou moucheté) conduit à conclure à l'absence d'ANCA et invite le clinicien à interpréter les résultats de fluorescence avec précaution, car ils s'expliquent probablement par l'interférence des ANA. Quand le contexte de connectivite est évident, le clinicien intégrera facilement cette absence d'ANCA. Dans le cas contraire, tout commentaire imprécis ne ferait qu'augmenter la confusion avec parfois une prise en charge thérapeutique inappropriée.

Pour faire face à l'interférence des ANA, l'expérience de lecture des ANCA sur éthanol peut être utile : la fluorescence liée aux ANA est généralement de distribution nucléaire (sur tout le noyau), homogène, distincte d'une fluorescence périnucléaire des anticorps ciblant des molécules localisées dans le cytoplasme. Dans notre pratique toutefois, un changement de fournisseur peut discréditer plusieurs années d'expérience et imposer la prudence dans la démarche d'identification de ces différentes spécificités.

9.2.2. Si la recherche des ANA sur cellules HEp-2 reste négative, est-il légitime d'évoquer la présence d'ANCA de spécificité(s) différente(s) de MPO et PR3 ?

L'utilisation d'un autre substrat pour l'immunofluorescence peut encore aider le biologiste dans cette interprétation. Il s'agit de lames sur lesquelles sont étalés des polynucléaires neutrophiles fixés par un mélange formol-acétone. Pour comprendre l'intérêt d'un tel substrat, nous allons revenir un instant au comportement de la myéloperoxydase, antigène cytoplasmique des polynucléaires neutrophiles fixés

par l'éthanol. La MPO est une protéine cationique très basique (pHi proche de 11), et la fixation par l'éthanol ne suffit pas à empêcher sa migration autour du noyau lors de la préparation du substrat. Cette cible antigénique se délocalise donc du cytoplasme vers le pourtour du noyau. Depuis la découverte des ANCA, on utilise donc cet artifice méthodologique pour distinguer différentes spécificités de ces anticorps. Si on utilise maintenant un fixateur « fort » (le mélange acétone-formol), la MPO ne peut plus migrer vers le noyau lors de la préparation des lames. L'aspect de fluorescence associé aux ANCA-MPO sur un tel substrat devient cytoplasmique (C-ANCA). On a compris ici que c'est la combinaison des aspects de fluorescence sur les substrats fixés par l'éthanol (P-ANCA) et le formol-acétone (C-ANCA), qui est utile à l'interprétation.

Il semble que des protéines cationiques autres que la MPO et présentes dans le cytoplasme des neutrophiles (BPI, élastase, cathepsine G) peuvent migrer autour du noyau et donner un aspect P-ANCA sur polynucléaires neutrophiles fixés par l'éthanol mais un aspect C-ANCA sur polynucléaires neutrophiles fixés par le mélange formol-acétone.

Revenons maintenant au cas qui nous intéresse : P-ANCA (éthanol) sans Ac anti-MPO ni anti-PR3 révélés par la méthode ELISA utilisée en routine. Selon la confiance que le biologiste accorde à ses trousses ELISA, la combinaison d'aspects de fluorescence P-ANCA (éthanol) / C-ANCA (formol) l'amènera à contrôler ces résultats par d'autres coffrets (en clair chez nous, si un doute persiste, on utilise la méthode dédiée à l'urgence pour confirmer les résultats de l'ELISA), ou à conclure à la présence d'ANCA de spécificité(s) différente(s) de MPO et PR3. Sur avis du clinicien, il pourra mener la démarche visant à les identifier de façon précise (ANCA-BPI, EL ...).

On notera qu'il est déconseillé de réaliser systématiquement l'évaluation de la fluorescence sur polynucléaires neutrophiles fixés par le mélange formol-acétone, et surtout de la réaliser systématiquement avant les dosages ELISA à la recherche d'ANCA-MPO [11]. En effet, tentation serait grande devant un aspect P-ANCA sur éthanol mais négatif avec le formol-acétone, de conclure à l'absence d'ANCA-MPO (et -PR3). Or, il apparaît que le test d'immunofluorescence sur polynucléaires neutrophiles fixés par le formol-acétone est moins sensible que « l'éthanol » pour l'identification des ANCA-MPO (et -PR3). Avec cette stratégie, on multiplie donc le risque de faux négatifs [11].

9.3. Les aspects de fluorescence péri-nucléaire sans ANCA-MPO (ni -PR3) – bis

Il existe encore des circonstances où l'ensemble des tests que nous venons d'engager sont négatifs alors que l'on observe une fluorescence P-ANCA. L'aspect de fluorescence sur polynucléaires neutrophiles fixés par l'éthanol est le plus souvent péri-nucléaire en « fin liséré ». Cet aspect « atypique » de fluorescence sur le pourtour des lobes nucléaires, parfois interrompu, laisse suspecter une spécificité particulière. Ce qualificatif d'« atypique » (aANCA) est parfois associé à ces ANCA particuliers. On peut lui préférer le terme d'« xANCA pour les distinguer des aspects de fluorescence cytoplasmiques « atypiques ». Ces aANCA ont aussi été appelés NANA (Neutrophil Anti-Nuclear Ab) ou NSA (Neutrophil Specific Ab). Ces différentes nomenclatures expliquent un peu la réticence que certains biologistes peuvent avoir à explorer ce domaine de pathologie. Elles y associent un degré supplémentaire de complexité.

On suspecte que la (les) cible(s) des aANCA (xANCA) soi(en)t localisée(s) dans le noyau ou au niveau de la membrane nucléaire et non dans le cytoplasme des neutrophiles, même si un doute persiste encore sur leur identification précise [12]. Ils ont été décrits dans de nombreuses pathologies mais leur recherche semble surtout utile au diagnostic des maladies inflammatoires du tube digestif, en combinaison de celle des Ac anti-*Saccharomyces cerevisiae* (ASCA). On comprend dès lors pourquoi les services de gastro-entérologie nous adressent tant de demandes de recherche d'ANCA. Ce n'est pas tant pour les recherches d'ANCA-MPO et -PR3 que pour celle des spécificités associées aux atteintes inflammatoires de la muqueuse colique.

Le lecteur se reportera à l'article de Sophie Desplat-Jégo pour mesurer tout leur intérêt [13], et nous nous limiterons à rappeler comment les détecter. Leur identification peut être aidée par l'utilisation d'un troisième substrat d'immunofluorescence (on peut même dire « quatrième » si on inclut la recherche d'ANA sur HEp-2) : les polynucléaires neutrophiles fixés par le méthanol. Ce substrat ne révèle en effet que les Ac antinucléaires, « gommant » le plus souvent la fluorescence liée aux Ac reconnaissant des cibles situées dans le cytoplasme des neutrophiles. Il est donc utile pour révéler les Ac ciblant des antigènes nucléaires du neutrophile. On perçoit d'emblée une limite majeure à l'utilisation de ce substrat : il est éminemment sensible aux interférences liées aux ANA (« généraux ») ! Sa mise en œuvre ne se fera donc qu'après avoir éliminé la présence de ces autoanticorps sur HEp-2.

A ce propos, on retiendra que l'interprétation des résultats associés à de tels aspects de fluorescence peut être délicate. En effet, le dépistage des ANA débute au 1/80 et celui des ANCA au 1/20. On comprend que la lecture des ANCA sur substrats éthanol et méthanol peut être sujette aux interférences par les ANA alors qu'on manque de méthodes pour les révéler si leur titre est inférieur au 1/80. La combinaison des données épidémiologiques du patient (âge) et le service dont le prélèvement est issu (gastro-entérologie ?) peuvent aider à l'interprétation. Sinon la conclusion doit reprendre les différentes hypothèses.

10. Réunion d'experts internationaux : démarche de préconisation-proposition de commentaires d'interprétation « types »

A partir des expériences marseillaise et lilloise, on vient de voir quelle pouvait être une démarche de prise en charge de la recherche d'ANCA dans deux laboratoires. Dans les paragraphes qui suivent seront rapportées des préconisations associées aux méthodes de recherche par IFI et ELISA des ANCA MPO et PR3 proposées par un collège d'experts et publiées en 2003 dans la revue American Journal of Clinical Pathology [11]. Ces experts proposent également des interprétations-types à associer aux différents résultats observés. Nous y associons nos propres commentaires et réactions issus de nos expériences marseillaise et lilloise.

| Préconisations pour la recherche des ANCA-MPO et -PR3 par ELISA | Commentaires des auteurs |
|--|--|
| 1. Les tests « maison » et commerciaux sont évalués par la mesure de la sensibilité et de la spécificité, de la répétabilité (intra-essai) et de la reproductibilité (inter-essais). | D'emblée ces préconisations semblent s'adresser aux laboratoires pouvant disposer des informations médicales permettant de juger les résultats des tests ELISA et de sélectionner les coffrets offrant les performances optimales. |
| Les données de sensibilité et de spécificité sont définies à partir de sérums de patients souffrant de vascularites actives type Wegener (WG), micropolyangéite (MPA) (dont la forme limitée au rein (MPA-R)) et syndrome de Churg et Strauss (SCS) et de contrôles constitués de patients souffrant de maladies inflammatoires non associés aux ANCA. | La population contrôle ne doit pas être constituée (exclusivement) de sujets sains. En France, tous les laboratoires, et notamment les laboratoires privés, ne disposent pas d'un accès facile aux informations cliniques leur permettant de sélectionner des cohortes de patients et de mener leurs tests de sélection. Pour être honnête, les laboratoires hospitaliers non plus ! Certes ils pourraient avoir un accès plus aisé aux données médicales du patient, mais ce n'est pas une démarche « naturelle ». Rares sont les biologistes systématiquement informés du contexte clinique associé à la prescription des ANCA. La collecte d'informations a donc un coût (celui de l'investissement du biologiste pour le recueil des données). En pratique, la réalisation systématique de contrôles de qualité internes, la participation aux programmes externes de contrôle de qualité, permettent de juger des performances intrinsèques (reproductibilité) et médicales (sensibilité et spécificité) des coffrets pour constituer une sérothèque. Celle-là même qui sera utilisée pour conduire les essais réactifs. |

| Préconisations pour la recherche des ANCA-MPO et -PR3 par ELISA | Commentaires des auteurs |
|--|--|
| 2. Les fournisseurs commerciaux fournissent les données de sensibilité / spécificité / répétabilité-reproductibilité pour chaque lot de réactifs ! | Ah ! ? |
| 3. Chaque test ELISA devra présenter un CV < 20 %, mesuré dans chaque série idéalement à partir d'échantillons représentatifs (c'est à dire extraits de la sérothèque et non les contrôles commerciaux), idéalement obtenus de patients souffrant de vascularites. Les prélèvements servant de contrôles seront sélectionnés pour leurs valeurs mesurées à l'intérieur de la portion linéaire de la courbe d'étalonnage. | <p>Un coefficient de variation (CV) de 20 % peut paraître important et on attend généralement de meilleures performances de reproductibilité d'un test ELISA.</p> <p>En pratique quotidienne, ce CV de 20 % est réaliste. Il traduit les variations inhérentes aux changements de lots des réactifs ou conditions de réalisation même si l'automatisation apporte un gain de standardisation.</p> <p>La connaissance des performances du coffret aura naturellement un retentissement sur l'interprétation de l'évolution des résultats dans le cadre de suivis de patients. Les experts l'ont d'ailleurs intégré dans leurs commentaires (voir ci-dessous).</p> <p>Choisir des contrôles dans une gamme de valeurs pertinentes (autour de la valeur seuil) est une démarche utile pour juger du bon déroulement de la manipulation. Un diagramme de Levey-Jennings et la gestion des lois de Westgard permettent une interprétation inter-séries des contrôles de qualité, améliorant leur seuil d'alerte (voir préconisation 5).</p> |
| 4. Idéalement, chaque laboratoire doit définir sa propre valeur seuil en choisissant une population contrôle souffrant de maladies inflammatoires sans ANCA (sous-entendu « et non des sujets sains »). Cette valeur seuil sera définie par la méthode des courbes ROC. | <p>Voir commentaire 1.</p> <p>Pour la gestion des courbes ROC, le lecteur est invité à se référer à l'article de H. Delacour et al. [14].</p> |
| 5. Contrôles à inclure dans la série : les contrôles positif et négatif des tests commerciaux (et maison) / un contrôle non commercial (« maison ») / contrôles éventuels imposés par les organismes accréditeurs. Les variations des résultats des contrôles doivent être contenues dans la borne de la valeur moyenne $\pm 1,96 \times$ la déviation standard. | <p>Dans notre pratique quotidienne, l'introduction de contrôles issus de notre propre activité nous a souvent permis de déceler des anomalies comportementales des réactifs avant que les contrôles du fournisseur ne le fassent.</p> <p>La gestion de tels contrôles reste toutefois délicate (quantité, stabilité, innocuité, stockage...) et à l'horizon de l'accréditation, il sera nécessaire de « contrôler » les contrôles.</p> |
| 6. Un blanc « réactif » sera associé à chaque série. | En pratique facile pour les tests en microplaque ELISA, cette démarche n'est pas nécessairement évidente pour tous les réactifs et les protocoles de dosages automatisés. |

| Préconisations pour la recherche des ANCA-MPO et -PR3 par ELISA | Commentaires des auteurs |
|--|---|
| 7. Les échantillons sont évalués en double. Les discordances sont contrôlées par une nouvelle recherche. | <p>Cette préconisation se révèle idéale sur le plan théorique. Si elle est applicable aux tests « maison » (nécessairement moins chers, sinon pourquoi les mettre en œuvre ?), elle devient vite économiquement « désastreuse » pour les réactifs commerciaux...</p> <p>Dans la pratique lilloise : 2 500 prescriptions ; 1 demande sur 5 conduit aux dosages ELISA soit 500 recherches par ELISA d'ANCA-MPO et ANCA-PR3 (1 000 résultats) réalisés en 25 séries annuelles. Six points de calibration en double ; 4 contrôles / série ; coût moyen du test 2,4 €⁴. Soit un coût/patient de 13,44 € contre 8,64 € selon que les tests sont réalisés en double ou non. Ce coût ne prend pas en compte l'immunofluorescence, l'amortissement de l'automate, le temps technique, médical... Pour une rentabilité de 15 % (1 positif sur 6 environ) !</p> <p>⁴Voir la note 1 sur le calcul des coûts réactifs.</p> |
| 8. Les recommandations du fournisseur sont suivies. | C'est un minimum peu contraignant. |

| Recommandations pour l'interprétation. Proposition de commentaires [11]. | Il est précisé que les commentaires ci-après ne sont donnés qu'à titre d'exemples. |
|---|---|
| Recommandations minimales : | |
| La recherche d'ANCA par IFI doit être faite avant les tests ELISA, mais si le résultat de cette recherche est partagé avec le clinicien, elle doit être accompagnée de la mention que l'interprétation des résultats ne peut se faire sans les tests ELISA. | S'il faut évidemment respecter cette chronologie, est-il prudent (utile ?) de partager des résultats incomplets (IFI seule) si c'est pour les pondérer d'une remarque qui enlève toute possibilité d'interprétation ? |
| Le commentaire précisera que le diagnostic biologique de vascularite à ANCA (WG, SCS et MPA/MPA-R) doit être confirmé histologiquement quand c'est possible. | Ce commentaire s'adresse aux cliniciens qui ne seraient pas experts dans le domaine des vascularites. |
| <i>IFI et tests ELISA ont été réalisés. Résultats :</i> | |
| <p>1. C-ANCA et PR3 évalués à 3 + ou 2 + (ou MPO évalués à 3 + ou 2 +)</p> <p>Commentaire type : ces résultats sont observés au cours des vascularites actives type WG, MPA/MPA-R) et le SCS. Le diagnostic doit être confirmé histologiquement si possible. Les patients dont le diagnostic est connu chez lesquels les ANCA réapparaissent sont suspects de rechute.</p> | <p>Les résultats sont donc estimés semi quantitativement (en nombre de « croix »). Ces données traduisent le manque de précision des coffrets de dosage des ANCA-MPO et -PR3 et finalement l'importance toute relative des résultats chiffrés.</p> <p>On constate qu'il n'est pas aberrant d'associer un aspect de fluorescence cytoplasmique avec la présence d'ANCA-MPO.</p> <p>On notera enfin que l'interprétation dans le cadre du suivi de patients reste prudente.</p> |

| Recommandations pour l'interprétation. Proposition de commentaires [11]. | Il est précisé que les commentaires ci après ne sont donnés qu'à titre d'exemples. |
|--|--|
| <p>1. C-ANCA et PR3 évalués à 3 + ou 2 + (ou MPO évalués à 3 + ou 2 +) Commentaire type : ces résultats sont observés au cours des vascularites actives type WG, MPA/ MPA-R) et le SCS. Le diagnostic doit être confirmé histologiquement si possible. Les patients dont le diagnostic est connu chez lesquels les ANCA réapparaissent sont suspects de rechute.</p> | <p>Les résultats sont donc estimés semi quantitativement (en nombre de « croix »). Ces données traduisent le manque de précision des coffrets de dosage des ANCA-MPO et -PR3 et finalement l'importance toute relative des résultats chiffrés. On constate qu'il n'est pas aberrant d'associer un aspect de fluorescence cytoplasmique avec la présence d'ANCA-MPO. On notera enfin que l'interprétation dans le cadre du suivi de patients reste prudente.</p> |
| <p>2. C-ANCA et PR3 négatifs ou évalués à 1 + (ou MPO négatifs ou évalués à 1 +) Commentaire type : ces résultats peuvent être observés au cours des vascularites (WG, MPA, MPA-R, SCS) chez des patients traités ou en phase inactive de la maladie mais aussi alors que le patient rechute. Ces résultats peuvent aussi s'observer lors d'infections chroniques et occasionnellement de maladies inflammatoires du tube digestif (MICI), ou d'autres maladies auto-immunes. La pertinence clinique de tels résultats n'est alors pas définie.</p> | <p>C'est, à mon sens (SD), le type même de commentaire qui dit « tout et son contraire ». Est-il réellement utile au clinicien qui prend en charge au quotidien les patients souffrant de vascularite ? J'en doute (SD). A la rigueur qu'au fil d'une conversation téléphonique le biologiste perçoive les doutes du clinicien quant à son expertise et qu'il lui rappelle les différents contextes associés à ce type de résultats, si lui-même se sent à l'aise.</p> |
| <p>3. C-ANCA atypiques et PR3 négatifs (et MPO négatifs) Commentaire type : ces résultats ne sont évocateurs d'aucun diagnostic mais sont occasionnellement observés au cours des infections chroniques, des MICI, ou d'autres maladies auto-immunes. La pertinence clinique de tels résultats n'est alors pas définie.</p> | <p>Encore une fois nous rappellerons que seule la combinaison de l'IFI et des tests ELISA permet de conclure à la présence d'ANCA-MPO ou -PR3.</p> |
| <p>4. P-ANCA et MPO évalués à 3 + ou 2 + Commentaire type : ces résultats sont observés au cours des vascularites actives type MPA (MPA-R), le SCS, et parfois la WG. Le diagnostic doit être confirmé histologiquement si possible. Les patients dont le diagnostic est connu chez lesquels les ANCA réapparaissent sont suspects de rechute.</p> | <p>Si les aspects C-ANCA classiquement associés aux ANCA-PR3, peuvent être associés à la présence d'ANCA-MPO, les aspects P-ANCA (classiquement ANCA-MPO) sont plus rarement associés aux ANCA-PR3. On retiendra aussi que la maladie de Wegener peut s'associer à la présence d'ANCA-MPO.</p> |
| <p>5. P-ANCA ou MPO négatifs ou évalués à 1 + Commentaire type : ces résultats peuvent être observés au cours des vascularites MPA (MPA-R), WG, et SCS, chez des patients traités ou en phase inactive de la maladie. Les patients dont les ANCA réapparaissent sont suspects de rechute. Ce type de résultats est également fréquent au cours des MICI ou d'autres maladies auto-immunes. La pertinence clinique de tels résultats n'est alors pas définie.</p> | <p>Voir commentaire 2.</p> |

| Recommandations pour l'interprétation. Proposition de commentaires [11]. | Il est précisé que les commentaires ci-après ne sont donnés qu'à titre d'exemples. |
|---|--|
| <p>6. ANCA atypiques (xANCA) et PR3 négatifs ou dosés à 1 + (ou MPO négatifs ou évalués à 1 +) Ces résultats sont observés au cours des MICI ou d'autres maladies auto-immunes. La pertinence clinique de tels résultats n'est alors pas définie. En revanche, de tels résultats ne sont pas observés au cours des vascularites type WG, MPA (MPA-R) ou SCS.</p> | <p>Les experts se basent ici sur leur expérience de lecture. La combinaison de recherche des ANCA sur polynucléaires neutrophiles fixés par l'éthanol et le méthanol peut toutefois aider à l'interprétation pour ceux qui ont moins d'expérience. On se méfiera des interférences par les ANA. On appréciera que les aANCA (xANCA) ne sont pas spécifiques des MICI, on les rencontre dans les maladies auto-immunes (syndrome de Sjögren, PR...), mais aussi dans d'autres pathologies inflammatoires des muqueuses (pulmonaire, notamment).</p> |
| <p>7. ANCA atypiques et MPO évalués à 3 + ou 2 Ces résultats sont suffisamment singuliers pour justifier d'un commentaire particulier : ils sont observés au cours de vascularites iatrogènes ou toxiques.</p> | <p>Dans notre expérience, les aspects de fluorescence ne sont pas systématiquement « atypiques ». C'est souvent le clinicien qui donne la clé finale d'interprétation, informant le biologiste des traitements que prend le patient.</p> |
| <p>8. C-ANCA négatif et PR3-ANCA évalués à 1 +, ou P-ANCA négatif et MPO-ANCA 1 + Ces résultats peuvent être observés au cours des vascularites (WG, MPA (MPA-R), SCS) chez des patients traités ou en phase inactive de la maladie mais aussi alors que le patient rechute. Ces résultats peuvent aussi s'observer lors d'infections chroniques et occasionnellement de maladies inflammatoires du tube digestif (MICI), ou d'autres maladies auto-immunes. La pertinence clinique de tels résultats n'est alors pas définie.</p> | <p>Voir commentaire 2. Les recherches itératives des ANCA-MPO et -PR3 peuvent être proposées à un patient suivi pour vascularite ou glomérulonéphrite. La consultation des antécédents aide naturellement à l'interprétation. On retiendra qu'en phase diagnostique (le patient n'est pas encore traité) les résultats n'occasionnent généralement pas d'ambiguïté d'interprétation (les titres sont élevés). Sous traitement les titres peuvent se réduire, il peut être plus difficile de proposer une interprétation tranchée. En cas de rechute, si les ANCA ne sont pas réapparus ou s'ils restent à taux faibles d'autres paramètres cliniques (généraux ou spécifiques) et biologiques (CRP, urémie, créatininémie) peuvent guider le clinicien pour sa prise en charge.</p> |
| <p>9. Fluorescence nucléaire homogène (différente de P-ANCA) et MPO-ANCA 3 + ou 2 + Commentaire type : ces résultats sont observés au cours des vascularites actives type MPA (MPA-R), le SCS, et parfois la WG. Le diagnostic doit être confirmé histologiquement si possible. Les patients dont le diagnostic est connu chez lesquels les ANCA réapparaissent sont suspects de rechute.</p> | <p>Ce commentaire montre combien il peut être difficile de distinguer un aspect P-ANCA d'une fluorescence nucléaire sur neutrophiles. C'est là toute l'importance des recherches associées des ANCA-MPO et -PR3 pour l'interprétation.</p> |
| <p>10. Fluorescence nucléaire homogène (différente de P-ANCA) et MPO-ANCA 1 + Ces résultats peuvent être observés au cours des vascularites MPA (MPA-R), WG, et SCS, chez des patients traités ou en phase inactive de la maladie. Les patients dont les ANCA réapparaissent sont suspects de rechute. Ce type de résultats est également fréquent au cours des MICI ou d'autres maladies auto-immunes. La pertinence clinique de tels résultats n'est alors pas définie.</p> | <p>Voir commentaire 2. Il est évident que l'expérience liée au recrutement de patients souffrant de vascularite / glomérulonéphrite aide à l'interprétation, apportant confiance dans l'interprétation des résultats.</p> |

11. Conclusion

Il faut convenir que la recherche et l'identification des ANCA restent un acte complexe pour le biologiste. L'élargissement de la prescription clinique ne facilite d'ailleurs pas l'interprétation des résultats.

A côté des pièges classiques associés aux tests ELISA, l'approche cohérente visant à mettre en place l'interprétation des résultats peut justifier d'introduire des actes non prescrits par le clinicien. S'il est plus facile de les ajouter dans le cadre d'une activité hospitalière, il faut convenir que la nomenclature n'est pas claire quant à la facturation qu'il faut alors associer à ces tests. C'est pourtant à ce prix que le biologiste dispose des éléments nécessaires à l'interprétation précise qui orientera le prescripteur dans sa conclusion et la prise en charge adaptée du patient. C'est bien là ce que préconise Monsieur Ballereau dans son rapport [15].

On répètera encore que conclure à la présence d'ANCA n'est pas un acte par défaut : si le malade produit des ANCA-MPO ou -PR3, le biologiste apporte lui des arguments de preuve de leur présence ! A l'heure actuelle seule la combinaison de l'IFI et de l'ELISA apportent ces éléments de preuve.

Remerciements

Les auteurs remercient vivement le Dr Nils Olivier Olsson (Plateau technique de biologie du CHU de Dijon) pour ses remarques constructives et sa relecture attentive. Ils remercient également les Dr Fanny Legrand et Vincent Elsermans pour l'aide à la préparation du manuscrit.

Références

[1] **Chevallier A.** Anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles : principales cibles antigéniques et méthodes de détection. *Rev Fr Lab.* 2002;341bis:28-34.

[2] **Hagen EC, Daha MR, Hermans J, Andrassy K, Csernok E, Gaskin G, et al.** Diagnostic value of standardized assays for anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in idiopathic systemic vasculitis. *Kidney Int.* 1998;53:743-53.

[3] **Kallenberg CG.** Autoantibodies to myeloperoxidase: clinical and pathophysiological significance. *J Mol Med.* 1998;76:682-7.

[4] **Deguillaume Y, Renaudineau Y, Chaline L, Saraux A, Nouisbaum J-B, Youinou P.** Les nouveaux ANCA : leur mode d'emploi. *Immunoanal Biol Spéc.* 2006;21:301-7.

[5] **Radice A, Sinico RA.** Antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA). *Autoimmunity.* 2005;38:93-103.

[6] **Chevallier A, Carrère F, Renier G.** Les anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles : méthodes de détection, principales cibles antigéniques et maladies associées. In : *Encyclopédie Médicochirurgicale, "appareil locomoteur"*, 14-001-L-20. Paris : Elsevier ; 1997. 4p.

[7] **Westman KWA, Selga D, Bygren P, Segelmark M, Baslund B, Wiik A, et al.** Clinical evaluation of a capture ELISA for detection of proteinase-3 antineutrophil cytoplasmic antibody. *Kidney Int.* 1998;53:1230-6.

[8] **Csernok E, Holle J, Hellmich B, Willem J, Cohen Tervaert JW, Kallenberg CGM, et al.** Evaluation of capture ELISA for detection of antineutrophil cytoplasmic antibodies directed against proteinase 3 in Wegener's granulomatosis: first results from a multicentre study. *Rheumatology (Oxford).* 2004;43:174-80.

[9] **Wiik AS.** Clinical use of serological tests for antineutrophil cytoplasmic antibodies. What do the studies say? *Rheum Dis Clin North Am.* 2001;27:799-813, vi-vii.

[10] **Gallicchio MC, Savage JA.** Detection of anti-myeloperoxidase and anti-elastase antibodies in vasculitides and infections. *Clin Exp Immunol.* 1991;84:232-7.

[11] **Savage J, Dimech W, Fritzler M, Goeken J, Hagen EC, Jennette JC, et al.** Addendum to the International Consensus Statement on testing and reporting of antineutrophil cytoplasmic antibodies. Quality control guidelines, comments, and recommendations for testing in other autoimmune diseases. *Am J Clin Pathol.* 2003;120:312-8.

[12] **Vermeulen N, Vermeire S, Rutgeerts P, Bossuyt X.** Serological markers in inflammatory bowel disease. *Immunoanal Biol Spéc.* 2008;23:358-67.

[13] **Desplat-Jégo S.** Pourquoi et comment détecter des anticorps anti-*Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) en 2004 ? *Rev Fr Lab.* 2004;361bis:45-7. Voir <http://geai-lesautoanticorps.fr>

[14] **Delacour H, Servonnet A, Perrot A, Vigezzi JF, Ramirez JM.** La courbe ROC (receiver operating characteristic) : principes et principales applications en biologie clinique. *Ann Biol Clin.* 2005;63:145-54.

[15] <http://www.afaqap.org/ecrivre/upload/200812290956150.Rapport%20Ballereau.pdf>

Groupe d'Étude de l'Auto-Immunité

Association GEAI

CHU Hôpital Larrey - Laboratoire d'Immunologie et d'Immunopathologie - 49033 ANGERS Cedex 01

René-Louis HUMBEL

Président du GEAI · LLIP

L-4149 ESCH-SUR-ALZETTE
LUXEMBOURG

Tél. : 00 352 488 288 380 - Fax : 00 352 488 288 385

E.mail : rlhumbel@llip.lu

Chantal ANDRÉ

Vice-Présidente du GEAI CHU Henri Mondor

Service d'Immunologie Biologique

51, av. du Mal de Lattre de Tassigny - 94010 CRÉTEIL

Tél. : 01 49 81 28 86 ou 01 49 81 22 98 (sec) - Fax : 01 49 81 28 97

E.mail : chantal.andre@hmn.aphp.fr

Alain CHEVAILLER

Trésorier du GEAI CHU Hôpital Larrey

Laboratoire d'Immunologie et d'Allergologie

Institut de Biologie en Santé

4 rue Larrey - 49933 ANGERS Cedex 9

Tél. : 02 41 35 47 89 ou 02 41 35 35 77 - Fax : 02 41 35 47 83

E.mail : alchevaller@chu-angers.fr

Isabel ABREU

Universidade Nova de Lisboa

Faculdade de Ciências Médicas

Departamento Universitário de Imunologia

Campo Santana, 130

1169-056 Lisboa

Tél. : +351 21 880 30 45 - Fax : +351 21 885 34 80

E.mail : iabreu.imuno@fcm.unl.pt

Xavier BOSSUYT

K.U. LEUVEN

Laboratorium geneeskende

Herestraat 49

B-3000 LEUVEN

BELGIQUE

Tél. : 0032 16 347009 - Fax : 0032 16 347931

E.mail : xavier.bossuyt@uzleuven.be

Pascale CHRÉTIEN

CHI

Service Hématologie et Immunologie

49, avenue de Verdun - 94000 CRÉTEIL Cedex

Tél. : 01 45 17 53 88 ou 01 45 17 53 33 (sec) - Fax : 01 45 17 53 49

E.mail : pascale.chretien@chicreteil.fr

Sophie DESPLAT-JEGO

Hôpital de la Conception – Pavillon Cornil

Laboratoire d'Immunologie

147 Boulevard Baille

13385 MARSEILLE Cedex 05

Tél. : 04 91 38 39 07 - Fax : 04 91 38 36 33

E.mail : sophie.jego-desplat@ap-hm.fr

Sylvain DUBUCQUOI

Centre de Biologie Pathologie du CHRU de Lille

Laboratoire d'Immunologie

Bd Jules Leclercq

59037 LILLE CEDEX

Tél. : 03 20 44 55 74 - Fax : 03 20 44 69 54

E.mail : sylvain.dubucquoi@chru-lille.fr

Nicole FABIEN

HC LYON SUD

Laboratoire d'Immunologie

UF Autoimmunité et Système Complément

69495 PIERRE-BENITE Cedex

Tél. : 04 78 86 66 83 - Fax : 04 78 56 90 60

E.mail : nicole.fabien@chu-lyon.fr

Françoise FORTENFANT

Hôpital Rangueil

Laboratoire d'Immunologie

Avenue Jean Poulhes - 31403 TOULOUSE Cedex 4

Tél. : 05 61 32 34 27 (direct) ou 05 61 32 34 31 (sec)

Fax : 05 61 32 34 30

E.mail : fortenfant.f@chu-toulouse.fr

Joëlle GOETZ

Nouvel Hôpital Civil

Laboratoire Centre d'Immunologie

1 place de l'hôpital - 67098 STRASBOURG Cedex

Tél. : 03 88 12 75 26 - Fax : 03 88 12 81 34

E.mail : joelle.goetz@chru-strasbourg.fr

Catherine JOHANET

Unité d'Immunologie

Laboratoire Central d'Immunologie

184, faubourg St-Antoine - 75571 PARIS Cedex 12

Tél. : 01 49 28 20 11 - Fax : 01 49 28 30 46

E.mail : catherine.johanet@sat.aphp.fr

Jean-Claude MONIER

20, rue de l'Oratoire - 69300 CALUIRE

Tél. : 04 78 29 66 86

fax : 04 78 29 66 86

E.mail : moniersurf@aol.com

Nils Olivier OLSSON

CHU - Plateau Technique de Biologie

Laboratoire d'Immunologie

2, rue Angélique Ducoudray

21079 DIJON Cedex

Tél. : 03 80 29 33 72 ou 03 80 29 32 26 (labo)

ou 03 80 29 30 31 (standard)

Fax : 03 80 29 37 87

E.mail : nils.olsson@chu-dijon.fr

Jean SIBILIA

CHU Hautepierre

Service Rhumatologie

67098 STRASBOURG

Tél. : 03 88 12 79 53 ou 03 88 12 79 55

Fax : 03 88 12 81 50

E.mail : jean.sibilia@wanadoo.fr

Thierry VINCENT

CHU Saint Eloi

Laboratoire d'Immunologie

80 Avenue Augustin Fliche

34295 MONTPELLIER CEDEX 5

Tél. : 04 67 33 71 35 - Fax : 04 67 33 71 29

E.mail : t-vincent@chu-montpellier.fr

Laurent TESTE

Secrétaire du GEAI

Bio-Rad

3, bd R. Poincaré - 92430 MARNES LA COQUETTE

Tél. : 33 1 47 95 69 16

Fax : 33 1 47 95 62 76

E.mail : laurent.teste@bio-rad.com



RÉDACTEUR EN CHEF : Jean-Claude MONIER - ÉQUIPE DE RÉDACTION : Maxime BOYER, Alain CHEVAILLER, Sophie DESPLAT-JEGO, Sylvain DUBUCQUOI, René-Louis HUMBEL, Catherine JOHANET, Daniela LAKOMY, Nils-Olivier OLSSON

Bio-Rad, 3 bd R. Poincaré 92430 Marnes-la-Coquette

Directeur de publication : Laurent TESTE

Secrétariat du GEAI : Tél. : 01 47 95 62 56 - fax : 01 47 95 62 00

Email : laurent.teste@bio-rad.com

Association GEAI - CHU Hôpital Larrey - Laboratoire d'Immunologie et d'Immunopathologie - 49033 Angers Cedex 01

Site Internet : <http://geai-lesautoanti.corps.fr>