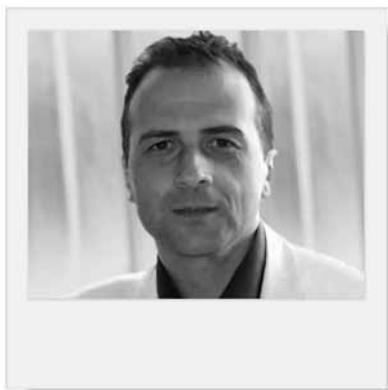


Auto-anticorps dans les maladies systémiques : quand les demander, comment les interpréter ?

RÉSUMÉ : Les autoanticorps en médecine peuvent être regroupés en trois catégories : les anticorps des connectivites, les anticorps des vascularites et les anticorps d'organe. Les anticorps antinucléaires permettent le diagnostic du lupus et des syndromes apparentés (Syndrome de Goujerot-Sjögren, Sharp, sclérodermie...). La technique de recherche comprend une phase de dépistage en immunofluorescence, idéalement sur cellules Hep2. Le syndrome des antiphospholipides est à suspecter en cas de thrombose sans facteur déclenchant d'autant plus que le patient est jeune. Les anticorps anticytoplasme des polynucléaires neutrophiles permettent le diagnostic des vascularites touchant les vaisseaux de petit calibre. Leur absence n'exclut cependant pas le diagnostic.



→ M. KHELLAF
Service de Médecine Interne,
CHU Henri Mondor,
CRETEIL.

Pour le clinicien non spécialiste, le maniement des autoanticorps peut paraître parfois complexe.

Dans cet article, nous essaierons de cerner les principales indications où il est utile de demander des autoanticorps, d'en comprendre les résultats et de les interpréter en fonction de la technique et de la clinique.

Les autoanticorps peuvent être regroupés en trois catégories :

- les anticorps des connectivites et apparentés : lupus, sclérodermie, syndrome de Goujerot-Sjögren, syndrome des antiphospholipides...
- les anticorps des vascularites : Maladie de Wegener, Churg et Strauss...
- les anticorps spécifiques d'organes : anticorps anti-neuronaux, anti-thyroïde...

Nous ne traiterons ici que des deux premières catégories, car seules à l'origine de manifestations systémiques.

Les anticorps des connectivites et apparentés

1. Les anticorps antinucléaires

● *Quand les demander ?*

Il existe de nombreuses situations en pratique quotidienne où il est licite de demander des anticorps antinucléaires : arthralgies chez une femme jeune, syndrome de Raynaud, syndrome sec, douleurs musculaires avec augmentation des CPK, fibrose pulmonaire, insuffisance rénale rapidement progressive, péricardite, myocardite, hépatite mixte...

● *Technique à propos des anticorps antinucléaires*

Du point de vue du clinicien, il est important de connaître quelques points clés de la technique de détection des anticorps antinucléaires en routine afin de pouvoir mieux dialoguer avec nos collègues biologistes et afin d'éviter de

s'égérer dans des diagnostics erronés. Le dépistage se fait désormais le plus souvent sur des cellules comportant un noyau volumineux comme les cellules Hep2 qui sont des cellules tumorales issues de lignées de cancer du pharynx humain.

La première étape consiste à mettre en présence ces cellules avec le sérum du patient à tester. Après lavage, on révèle la présence éventuelle d'anticorps grâce à des anticorps fluorescents. L'étape suivante nécessite une lecture par le biologiste en lecture optique à fond noir. Les résultats attendus de cette technique sont : résultat négatif ou positif et, en cas de positivité, un titre de dilution qui permettra de quantifier le niveau des anticorps.

Officiellement, un titre $> 1/80^e$ suffit pour considérer que le résultat est positif, mais en pratique, un titre $> 1/160^e$ paraît plus réaliste. L'autre information importante de cette première ligne de détection biologique des anticorps est d'apprécier le type de fluorescence : homogène, moucheté, nucléolaire, cytoplasmique... Le type de fluorescence permet au biologiste d'anticiper les techniques suivantes qui consistent à déterminer les cibles antigéniques des anticorps antinucléaires détectés sur cellules Hep2 (**tableau I**).

Il faut se méfier des résultats d'AAN donnés en technique ELISA qui ne sont pas aussi fiables et pèchent par excès en raison d'une trop grande sensibilité. Il est essentiel que les biologistes aient accès au maximum de renseignements cliniques afin d'affiner les recherches en

Type de fluorescence	Cibles suspectées
Homogène	Anticorps anti-DNA natif, anticorps anti-histone
Mouchetée	Anti-Sm, RNP, SSA, SSB
Nucléolaire	Anti-PM, Scl

TABLEAU I : Fluorescence et cibles attendues des anticorps antinucléaires.

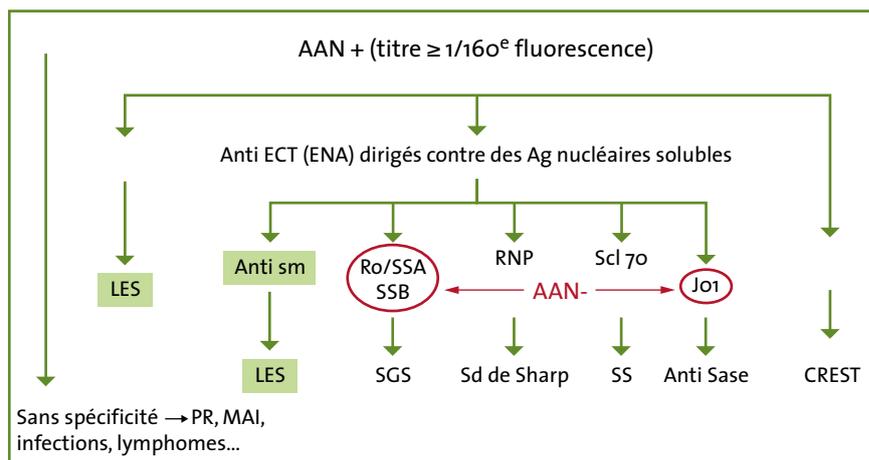


Fig. 1 : Correspondance cibles antigéniques et pathologies auto-immunes. AAN = anticorps antinucléaires, LES = lupus érythémateux disséminé, PR = polyarthrite rhumatoïde, MAI = maladies auto-immunes, SGS = syndrome de Goujerot-Sjögren, SS = sclérodémie systémique, Anti Sase = syndrome des antisyntétases, CREST = Calcinosé Raynaud Esophagal Skin Telangectasia,

fonction des orientations du clinicien. Dans la **figure 1** sont listées les correspondances attendues entre résultats des cibles antigéniques et pathologies auto-immunes [1-4]. A signaler qu'il est possible d'avoir des anticorps anti-JO1 et anti-SSA en l'absence d'anticorps antinucléaires détectés sur cellules Hep2. Il convient donc d'insister auprès des collègues biologistes en cas de forte suspicion de syndrome des antisyntétases ou de syndrome de Goujerot-Sjögren.

● Comment interpréter les anticorps antinucléaires ?

Les anticorps antinucléaires sont très utilisés pour le dépistage de maladies

auto-immunes, en particulier le lupus. Ils permettent également de dépister d'autres connectivites comme la sclérodémie, le syndrome de Sharp, le syndrome de Goujerot-Sjögren ou le syndrome des antisyntétases selon les cibles antigéniques détectées (**fig. 1**).

2. Les anticorps antiphospholipides : indications, techniques et résultats

Le syndrome des antiphospholipides (SAPL) est défini comme l'association d'un événement clinique (thrombose artérielle ou veineuse et/ou événement obstétrical) et d'un anticorps antiphospholipidique (APL) (**tableau II**) [5-8].

1 critère clinique	1 critère biologique
Thrombose veineuse ou artérielle ou microvasculaire	ACC, aCL, antiβ2GPI d'isotype IgG ou IgM, sérologie de la syphilis dissociée*
Une mort fœtale inexpliquée ou une naissance prématurée (moins de 34 semaines) provoquée par prééclampsie ou syndrome HELLP (Hemolysis, Elevated Liver Enzymes, Low Platelet) ou des avortements à répétition (au moins 3)	

TABLEAU II : Critères pour retenir le diagnostic de syndrome des antiphospholipides : 1 critère clinique + 1 critère biologique. ACC = anticoagulant circulant, aCL = anticardiolipide.

* Un seul de ces anticorps est en principe suffisant au diagnostic, mais doit être présent chez le patient pendant au moins 12 semaines.

● **Quand les demander?**

Les indications de la recherche d'un SAPL en reprennent la définition: thrombose sans facteur déclenchant d'autant plus qu'il s'agit d'une femme jeune, fausses couches à répétition, pertes fœtales, thromboses artérielles inexpliquées.

● **Quels tests demandés?**

La recherche d'anticorps antiphospholipides se fait autour de trois principaux éléments:

- anticoagulant circulant de type lupique (ACC),
- anticardiolipide (aCL),
- anti-b2-GP1.

● **Comment les interpréter?**

L'anticoagulant circulant, dont le nom peut prêter à confusion car à l'origine de thrombose et non de saignement, est suspecté sur un allongement du Temps de Céphaline Activé (TCA). La technique de dépistage d'un ACC consiste à mélanger le sérum du malade avec un sérum de sujet témoin: si le TCA du mélange reste allongé, c'est qu'il existe un inhibiteur de la coagulation chez le malade.

Cet effet inhibiteur peut être quantifié par le calcul de l'indice de Rosner (TCA malade en seconde - TCA témoin en s)/TCA malade, le tout multiplié par 100. Si l'indice est supérieur à 15, l'anticoagulant circulant est confirmé, entre 12 et 15: il est douteux, < 12: la recherche est négative.

L'anticorps antiCardioLipide (aCL) se recherche par technique ELISA avec un résultat qui est rendu en unités. L'isotype IgG a le plus de valeur. Un taux d'aCL devient significatif à partir de 30 à 35 UI.

L'anticorps anti-β2-Gp1 ne devrait être recherché qu'en cas de négativité des deux autres tests si le contexte clinique est évocateur ou si le tableau clinique est atypique. Ce marqueur semble en effet avoir une bonne valeur prédictive en faveur d'un syndrome des antiphospholipides.

Il existe de nombreux faux positifs d'antiphospholipides dont la liste mérite d'être connue afin de ne pas surdiagnostiquer et donc surtraiter les patients: hépatite C, neuroleptiques, VIH, syphilis, Lyme, tuberculose, paludisme... Pour éviter ce piège, il est impératif de contrôler les APL à 12 semaines d'intervalle.

3. Les anticorps anti-cytoplasmes des polynucléaires neutrophiles (ANCA)

● **Quand les demander?**

Lorsqu'on suspecte une vascularite systémique, il est aujourd'hui incontournable de demander une recherche d'anticorps anticytoplasme des polynucléaires neutrophiles. On suspecte habituellement une vascularite devant un tableau associant plusieurs atteintes d'organes simultanées: arthralgies, multinévrite, purpura vasculaire, insuffisance rénale avec anomalie du sédiment urinaire, fièvre prolongée, syndrome inflamma-

toire prolongé... En cas de positivité de ce test, il sera possible de classer la vascularite et même parfois d'éviter au patient une biopsie de tissu.

● **Comment interpréter les résultats?**

Dans le **tableau III** est résumée l'interprétation des résultats possibles avec la recherche d'ANCA. Les anticorps anticytoplasme des polynucléaires neutrophiles (ANCA) sont une nouvelle famille d'auto-anticorps dirigés contre des antigènes du cytoplasme des polynucléaires neutrophiles et des monocytes. Ils ont une forte spécificité pour le groupe des vascularites nécrosantes systémiques.

Les ANCA sont retrouvés dans le groupe des vascularites des vaisseaux de petit calibre: granulomatose de Wegener (GW), polyangéite microscopique et angéite granulomateuse de Churg et Strauss [9-11]. Bien que des ANCA aient été décrits au cours d'autres affections (rectocolite ulcéro-hémorragique, maladie de Crohn, cholangite sclérosante primitive, cirrhose biliaire primitive), leur spécificité pour le groupe des vascularites nécrosantes systémiques et/ou des glomérulonéphrites rapidement progressives pauci-immunes est très élevée, de l'ordre de 94 à 99 %. La méthode de référence pour la détection des ANCA est un test d'immunofluorescence indirecte sur des polynucléaires fixés dans l'alcool. Deux types de fluorescence sont observés (**fig. 2**):

- une fluorescence cytoplasmique des polynucléaires neutrophiles et des monocytes, appelée c-ANCA,

	Type anti PR3	Type anti MPO
ANCA +	Maladie de Wegener 80 % des formes systémiques Micropolyangéite 60 %	Maladie de Churg et Strauss 60 % des cas
ANCA -	Péri-artérite noueuse 100 % Maladie de Churg et Strauss 40 % Micropolyangéite 25 % Maladie de Wegener 20 %	

TABLEAU III: Interprétation des ANCA en fonction de leur présence et du type retrouvé (d'après L.Guillevin et al., Info vascularite, Groupe Français d'Etude des Vascularites GFEV, <http://www.vascularites.org>).

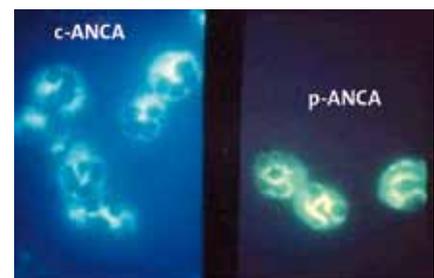


FIG. 2: Aspect en immunofluorescence des ANCA (d'après <http://www.vascularite.org>).

– une fluorescence périnucléaire des polynucléaires, appelée p-ANCA.

Lorsque l'aspect en immunofluorescence ne correspond ni à celui des c-ANCA, ni à celui des p-ANCA, on parle d'ANCA atypiques. Parallèlement à l'identification des antigènes cibles des ANCA, des tests par ELISA ont été développés. Le plus souvent, les ANCA sont des anticorps de classe IgG. Habituellement, les patients ont soit des c-ANCA, soit des p-ANCA, mais leur association est cependant possible chez un même sujet. Plusieurs enzymes lysosomiales, contenues dans les granulations primaires et secondaires des polynucléaires neutrophiles, ont été identifiées comme les cibles des ANCA. Les deux principaux antigènes connus sont la PR3 (protéinase 3) et la MPO (myéloperoxydase), contenues dans les granulations primaires des polynucléaires neutrophiles et des monocytes. La PR3 est l'antigène reconnu par la majorité des c-ANCA, la MPO l'antigène reconnu par la majorité des p-ANCA (80 à 90 %).

Un certain nombre d'études ont démontré la corrélation du titre d'ANCA à l'activité clinique de la maladie et une ascension des taux d'anticorps précède habituellement la rechute clinique. Le parallélisme entre l'activité de la GW et le titre des ANCA n'est cependant pas total. Certains patients en rémission gardent des taux élevés d'ANCA, sans qu'une rechute ne soit observée.

Conclusion

Les autoanticorps en médecine nécessitent d'être motivés par des situations cliniquement évocatrices, ils visent à diagnostiquer essentiellement une

POINTS FORTS

- ➔ Les autoanticorps doivent être demandés pour diagnostiquer une connectivite (lupus, sclérodermie...), un syndrome des antiphospholipides ou une vascularite.
- ➔ Le syndrome des antiphospholipides est à rechercher devant une thrombose chez un sujet jeune ou en cas de pertes fœtales. Un résultat biologique positif doit être confirmé à 12 semaines.
- ➔ Les facteurs antinucléaires doivent être rendus par une technique d'immunofluorescence sur cellules Hep2.
- ➔ Les anticorps anticytoplasme des polynucléaires permettent de diagnostiquer une vascularite des petits vaisseaux, le résultat peut être négatif sans remettre en cause le diagnostic pour autant.

connectivite, un syndrome des antiphospholipides et une vascularite.

Bibliographie

1. BERNARDINI S, INFANTINO M, BELLINCAMPI L *et al.* Screening of antinuclear antibodies: comparison between enzyme immunoassay based on nuclear homogenates, purified or recombinant antigens and immunofluorescence assay. *Clin Chem Lab Med*, 2004; 42: 1155-1160.
2. BOSSUYT X, LOUCHE C, WIJK A. Standardisation in clinical laboratory medicine: an ethical reflection. *Ann Rheum Dis*, 2008; 67: 1061-1063.
3. HANLY JG, THOMPSON K, MCCURDY G *et al.* Measurement of autoantibodies using multiplex methodology in patients with systemic lupus erythematosus. *J Immunol Methods*, 2010; 352: 147-152.
4. MERONI PL, SCHUR PH. ANA screening: an old test with new recommendations. *Ann Rheum Dis*, 2010.
5. CERVERA R, PIETTE JC, FONT J *et al.* Antiphospholipid syndrome: clinical and immunologic manifestations and patterns of disease expression in a cohort of 1,000 patients. *Arthritis Rheum*, 2002; 46: 1019-1027.
6. COHEN D, BERGER SP, STEUP-BEEKMAN GM *et al.* Diagnosis and management of the antiphospholipid syndrome. *BMJ*, 2010; 340: c2541.
7. GIANNAKOPOULOS B, PASSAM F, IOANNOU Y *et al.* How we diagnose the antiphospholipid syndrome. *Blood*, 2009; 113: 985-994.
8. HUGHES GR. Thrombosis, abortion, cerebral disease, and the lupus anticoagulant. *Br Med J (Clin Res Ed)*, 1983; 287: 1088-1089.
9. HAGEN EC, DAHA MR, HERMANS J *et al.* Diagnostic value of standardized assays for anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in idiopathic systemic vasculitis. EC/BCR Project for ANCA Assay Standardization. *Kidney Int*, 1998; 53: 743-753.
10. SINICO RA, DI TOMA L, MAGGIORE U *et al.* Prevalence and clinical significance of antineutrophil cytoplasmic antibodies in Churg-Strauss syndrome. *Arthritis Rheum*, 2005; 52: 2926-2935.
11. VAN DER WOUDE FJ, RASMUSSEN N, LOBATO S *et al.* Autoantibodies against neutrophils and monocytes: tool for diagnosis and marker of disease activity in Wegener's granulomatosis. *Lancet*, 1985; 1: 425-429.

L'auteur a déclaré ne pas avoir de conflit d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.