

**Avertissement:** Notes prises au vol, erreurs possibles, prudence...

Mardi 29 mai 2012

Hôpital cantonal de Genève

**Anticorps antinucléaires(ANA/FAN): comment interpréter les résultats?**

Dre Roux-Lombard

Attention les amis...c'est plutôt austère aujourd'hui...

Un anticorps (Ac) est spécifique pour un antigène (Ag) , et sa liaison à l' Ag, va se faire par le biais d'un site qu'on appelle l'épitope (Et).

La force de liaison entre l'Ac et l'Et dépend des forces non covalentes fortes ou faibles qui vont déterminer «l'affinité» de l'Ac pour l'Ag.

Un Ag a plusieurs Et qui vont avoir chacun des affinités différentes, et cet ensemble «d'affinités» c'est ce que l'on appelle «l'avidité» de l'Ac pour l'Ag.

Plus il y a d'Et sur lesquels l'Ac va pouvoir se lier plus l'avidité sera grande, et celle ci progresse de façon logarithmique, c'est à dire que deux sites de liaisons entraînent une liaison 100 fois plus forte qu'un seul site.

Quand on dose les Ac antinucléaires, le chiffre rendu ne correspond pas à un nombre de molécules par unité de volume, mais à une combinaison entre quantité et avidité.

Par exemple un chiffre de 1/640 peut aussi bien correspondre à beaucoup d'Ac ayant une faible avidité, qu'à peu d'Ac ayant une grande avidité....

Le principe du dosage repose sur une reconnaissance biologique de l'Ag fixé sur un support par l'Ac se trouvant dans le sérum du patient.

C'est à dire que le sérum du patient est mis en contact avec un support contenant l'Ag, sur lequel il va se fixer; il s'ensuit un lavage qui ne doit être ni trop important (risque d'éliminer des Ac de faible avidité) ni insuffisant (risque de laisser des Ac qui ne sont pas spécifiques de l'Ag). Ensuite les anticorps fixés seront marqués au moyen d'une substance immunofluorescente qui va permettre de les visualiser (ça c'est l'immunofluorescence indirecte= IFind).

Dans l'IFind. l'Ag est une cellule humaine à gros noyau, dite Hep.2 , l'Ag est donc peu «trafiqué» et à son état presque naturel.

Dans d'autres techniques comme l'Elisa ou l' Immunoblot, l'Ag est purifié, ou produit par génie génétique...mais à part ça c'est un peu la même chose avec la formation d'une liaison entre l'Ag et l'Ac puis la révélation de ce complexe soit par un substrat chromogène, soit par électrophorèse (si j'ai bien compris...). La grosse différence c'est la pureté de l'Ag.

Quand on parle des ANA ou des AAN ou des anticorps antinucléaires on parle d'Ac dirigés contre les Ag du noyau, mais aussi contre certains Ag cytoplasmiques.

Pour ce qui est des FAN ou facteurs antinucléaires, c'est le terme utilisé lorsque les ANA sont dépistés par IFind justement sur les cellules humaines à gros noyaux (Hep 2).

On devrait abandonner le terme FAN...

Cette IFind peut se présenter de plusieurs façons, selon où la fluorescence est observée:

- nucléolaire
- mouchetée
- homogène-
- membranaire
- centromère et fuseau
- cytoplasmique

L'avantage de l'IFind c'est que l'examen est très sensible, que l'Ag est présenté dans sa conformation naturelle, et que l'on détecte de cette façon de très nombreux autoAc.

Le désavantage c'est que ce n'est pas très spécifique et que c'est opérateur dépendant. Et qu'un aspect (visualisé au microscope) peut en cacher un autre.

L'IFind n'est pas très sensible pour dépister les Ac antiSSA (cf Sjögren).

Les autres méthodes, comme déjà dit, sont les ElisAs et les Immunoblots qui utilisent des Ag purifiés, avec le risque de dénaturation de ceux ci lors du processus de purification.

L'Ag naturel a une structure tridimensionnelle qui exprimera plusieurs épitopes répartis d'une certaine manière dans l'espace. Si l'Ag purifié est d'origine recombinante, cette disposition peut être modifiée, comme le sera la présentation des épitopes donc l'avidité risque de s'en trouver altérée...

De plus on peut imaginer que si le substrat supportant l'Ag est présenté de façon bien alignée, l'avidité ne sera pas la même que si la présentation de l'Ag est faite de façon désordonnée et que la aussi l'avidité s'en trouvera modifiée.....

Tout ça pour dire que les différents tests sur le marché entraînent des résultats variables et qu'il y a quelques temps 6 tests étant comparés, il s'avérait que chez certains patients seuls 2/6 tests donnaient des résultats positifs.

Ceci ne permet pas de dire qu'il y a de bon et de mauvais tests, mais plutôt que certains tests sont vraiment «patients-dépendants».

En 2009, un case report du NEJM rapportait l'histoire d'une patiente suspectée d'avoir un lupus et dont les ANA étaient négatifs, et dont les ANA se sont révélés + à 1:1280 par la suite en effectuant une IFind.

Donc il est clair qu'en ce qui concerne le dépistage c'est à l'IFind qu'il faut s'adresser car c'est le test le plus sensible, les Ag sont dans leur conformation naturelle, les résultats sont comparables entre labos car tous utilisent les cellules Hep2...

Il faut savoir aussi que dans la population normale 32% des gens ont des ANA entre 1/10 et 1/40; 13% entre 1/80 et 1/160, et que 3% ont des ANA à une dilution de 1/320.

De même plus on vieillit, plus on a de chances d'avoir des ANA > à 1/320:  
3% si < 59 ans; 10% entre 60 et 69 ans; 12% entre 70 et 79 ans et 20% au dessus de 80 ans...

A part les maladies autoimmunes, il y a plein d'autres maladies qui peuvent présenter un taux accru d'ANA (hépatite chron. Active, BPCO, syndrome lymphoprolifératif, infections, thyroïdite, diabète etc...et j'en passe...).

En dehors des connectivites, les ANA ont un aspect dense et finement moucheté à l'IFind

A chaque répartition de l'immunofluorescence (nucléolaire, moucheté, homogène, membranaire, centromère etc...) correspond un ou des Ag contre lequel est dirigé l'Ac et par conséquent une maladie spécifique.

Par ex.:

Nucléolaire = sclérodermie

Moucheté = MCTD

Homogène= LED                    etc

Si on a une IFind positive homogène on cherche ensuite plus spécifiquement les Ag contre lesquels sont dirigés les Ac, soit les nucléosomes (DNA+Histones), DNA natif, etc...mais là ça commence à devenir compliqué...

Pour nous autres praticiens, des ANA < 1/320 sont considérés comme négatifs.

Si > 1/320 ou si il y a une forte suspicion clinique on ira plus loin avec des trucs comme les antinucléosomes Elisa...mais en ce qui me concerne je pense que je passerai le ballon plus loin car comme dit Arnaud Perrier...l'immunologie «c'est un métier»...

Assurons nous que le labo avec lequel nous travaillons, fait bel et bien une IFind. lorsque nous cochons «ANA» ou «FAN» dans la case ad hoc.

Bel effort de clarté et de mise au niveau de l'auditoire pour l'oratrice...Loin d'être évident avec un sujet pareil... Merci

Compte-rendu du Dr Eric Bierens de Haan

[ericbdh@hin.ch](mailto:ericbdh@hin.ch)

transmis par le laboratoire MGD

[colloque@labomgd.ch](mailto:colloque@labomgd.ch)