

AC ANTI-ENA ou ANTI-ANTIGENES NUCLEAIRES SOLUBLES

DEFINITION

Les anticorps anti-ENA (*Extractable Nuclear Antigen*), anciennement anti-ECT (extraits de cellules thymiques), réagissent avec des constituants solubles du noyau et du cytoplasme des cellules. De nombreux anticorps ont été décrits, mais seuls une dizaine ont une signification clinique connue (SSA, SSB, Sm, RNP, JO1, SCL70).

Ces anticorps sont plus ou moins spécifiquement associés à certaines connectivites et représentent une aide précieuse à leur diagnostic.

L'aspect de la fluorescence sur cellules HEp-2® peut évoquer certains ENA, mais leur détermination précise doit se faire à l'aide de techniques adaptées. En France, ces techniques **peuvent être** mises en œuvre par le biologiste lorsque la recherche d'anticorps anti-nucléaires (AAN) est $> 1/80^e$ par immunofluorescence indirecte (IFI).

INDICATIONS DE LA RECHERCHE

Les anticorps anti-ENA doivent être recherchés devant tout anticorps anti-nucléaire positif. Ils sont associés de façon plus ou moins spécifique aux connectivites et constituent un marqueur diagnostique et parfois pronostique important. Un dépistage positif impose une confirmation et un titrage. Les anticorps recherchés en routine sont les suivants :

■ AC ANTI-SSA/RO 60

L'antigène est constitué par des ribonucléoprotéines de faible poids moléculaire, décrits pour la première fois dans le sérum d'un patient atteint de maladie de Gougerot Sjögren. Ces anticorps sont révélés en IFI sur cellules HEp-2® par une fluorescence finement mouchetée du noyau. Les cellules HEp-2® ont ne détectent pas parfaitement les anti-SSA, c'est pourquoi, on peut être amené à les rechercher directement par une technique spécifique, même si les AAN sont négatifs.

D'autre part, des cellules HEp-2 (HEp2000®) transfectées, qui surexpriment l'antigène SSA sont commercialisées.

Les anticorps anti-SSA sont retrouvés dans :

- 30 à 50 % des lupus érythémateux systémiques (LES),
- 40 à 80 % des syndromes secs de Gougerot Sjögren,
- 60 à 90 % des lupus cutanés subaigus,

– 3 à 5 % des polyarthrites rhumatoïdes,

– le lupus néonatal : les anticorps anti-SSA traversent la barrière placentaire et peuvent être responsables du lupus néonatal avec bloc auriculo-ventriculaire. Le risque est de 1 à 2 % pour le 1^{er} enfant mais de 15 à 20 % pour les grossesses suivantes.

■ AC ANTI-SSA/RO 52

L'antigène est constitué par la TRIM21 qui ne fait pas partie de la particule antigénique SSA. L'appellation SSA 52 est donc abusive. Ces Ac sont présents dans plusieurs pathologies mais leur spécificité n'est pas démontrée.

■ AC ANTI-SSB/LA

Très souvent associés aux anti-SSA, ils sont retrouvés dans 40% des syndromes de Gougerot Sjögren et 10 % des LES.

■ AC ANTI-RNP

L'antigène est constitué par une ribonucléoprotéine faisant partie des « *small nuclear ribonucleoproteins* ». Ces anticorps donnent une fluorescence mouchetée à grains moyens irréguliers sur les cellules HEp-2® et sont, à taux élevés, des marqueurs de connectivite mixte (syndrome de SHARP) mais aussi de LED.

■ AC ANTI-SM

L'antigène Sm fait partie des « *small ribonucleoproteins* ». Il comprend plusieurs polypeptides. Les anticorps apparaissent en IFI sur les noyaux des cellules HEp-2 avec une fluorescence mouchetée à grains moyens.

Ce sont des anticorps très spécifiques du LED, mais rarement retrouvés (10% des caucasiens, mais 30 % des noirs américains).

■ AC ANTI-SCL 70

Ils sont dirigés contre la topo-isomérase 1 et donnent un aspect de fluorescence nucléaire mouchetée avec des grains très fins et très denses, pouvant apparaître homogènes ; un aspect nucléolaire est fréquemment associé. Ces anticorps sont un marqueur de sclérodermie systémique associée à un pronostic plus sévère avec, souvent, fibrose pulmonaire.

■ AC ANTI-JO1

Ce sont des anticorps anti-cytoplasme dont l'antigène cible est l'histidyl ARNt synthétase. En IFI, ils donnent une fluorescence finement granulaire du cytoplasme des cellules HEp-2.

Ils sont présents avec une fréquence variable au cours des polymyosites et dermatomyosites, plus particulièrement dans les formes avec fibrose pulmonaire.

Le tableau suivant présente les principales associations cliniques des anti-ENA

Anti-RNP	Connectivite mixte (100 %) LES (25 %)
Anti-Sm	LES (10 – 30 %)
Anti-SSA	Gougerot Sjögren (50 %), LES (30 %)
Anti-SSB	Gougerot Sjögren (80 %), LES (5 %)
Anti-Scl70	Sclérodémie systémique (20 %)
Anti-JO1, PL7, PL12	Polymyosite-dermatomyosite
Anti-Mi2	Dermatopolymyosite
Anti Pm-Scl et anti-Ku	Polymyosite, sclérodémie

RECOMMANDATIONS PREANALYTIQUES

■ PRELEVEMENT CONSERVATION, TRANSPORT

Se reporter au référentiel des examens de biologie médicale Biomnis en ligne pour les conditions de prélèvement et conservation-transport.

■ RENSEIGNEMENTS CLINIQUES

Signaler toute pathologie auto-immune ou autre connue ainsi que le résultat de la recherche des anticorps antinucléaires.

METHODE DE DETECTION

■ IMMUNODIFFUSION DOUBLE (OUCHTERLONY)

Cette technique permet, à l'aide de sérums de référence, d'identifier les systèmes antigènes-anticorps anti-ENA.

L'antigène et l'antisérum sont mis en présence sur un gel d'agarose et leur migration de l'un vers l'autre se traduit à l'équilibre par une ligne de précipitation visible à l'œil nu ou à la loupe.

L'électrosynérèse utilisant une migration dans un champ électrique est plus rapide. On réalise en général d'abord un dépistage avec un antigène constitué d'un extrait brut de broyat d'organes lymphoïdes (thymus ou rate). En présence d'une réaction positive, les anticorps spécifiques seront identifiés à l'aide d'antisérums de référence de spécificité connue.

L'immunodiffusion est une technique simple, spécifique mais assez peu sensible. Elle nécessite en général une lecture précoce (5 à 6 heures) puis une lecture tardive (24 heures). Elle permet cependant la détection de certains auto-anticorps pour lesquels il n'existe aucune trousse commercialisée.

■ TECHNIQUES IMMUNO-ENZYMATIQUES

Les techniques immuno-enzymatiques de type ELISA sont actuellement très utilisées pour le dépistage et la caractérisation des anti-ENA. Les trousse disponibles permettent en général un dépistage en utilisant un antigène global par puits réactif. Les dépistages positifs peuvent être identifiés secondairement en utilisant des

barrettes dans lesquelles chaque puits contient un antigène purifié.

La technique ELISA est plus sensible que la technique d'Ouchterlony, mais des différences de résultats et de spécificité peuvent être observées entre les trousse en fonction de la nature et du mode de préparation de l'antigène.

■ TECHNIQUES D'IMMUNO-EMPREINTE

Les techniques de Western Blot (séparation des antigènes nucléaires par électrophorèse) ne sont pas recommandées car la préparation dénature les antigènes, cause de faux positifs et faux négatifs.

La technique de Dot Blot (dépôt d'antigènes natifs sur des membranes) permet la détection simultanée d'un ou plusieurs auto-anticorps.

■ TECHNIQUES RECENTES

Ce sont les technologies utilisant la chemiluminescence, l'immunofluorimétrie, l'immunofluorimétrie en flux (technologie Luminex®) automatisées sur le Bioplex®.

VALEURS DE REFERENCE

Elles dépendent de la technique utilisée.

Toutes les techniques d'immuno-diffusion et les techniques de Dot Blot sont des techniques qualitatives: le résultat est positif ou négatif.

En technique ELISA et dérivés, le seuil de positivité retenu est variable en fonction du réactif.

POUR EN SAVOIR PLUS

- Humbel R.L., *Auto-anticorps et maladies auto-immunes*, Collection Option/Bio, Ed Elsevier, 2e Ed, Paris, 1997:45-94.
- Arvieux J., Youinou P., *Les anticorps dirigés contre les antigènes nucléaires solubles Sm et RNP*. In : Meyer O., Rouquette A.M., Youinou P., *Auto-anticorps marqueurs de maladies auto-immunes*, Paris: BMD, 1999; pp.121-127.
- *Anti-antigènes nucléaires solubles communs et rares*, Colloque GEAI 2000, Auto-anticorps actualité, Spectra Biologie, Juin 2000.