

CRYOGLOBULINE

DEFINITION

Les cryoglobulines sont des immunoglobulines qui précipitent ou se gélifient à une température inférieure à + 37 °C et se resolubilisent à la chaleur de façon réversible. La température de précipitation des cryoglobulines varie de + 4 °C à + 36 °C, ce qui explique que certains examens biologiques sont perturbés s'ils ne sont pas réalisés à 37 °C.

L'analyse immunochimique des cryoglobulines a permis d'en définir trois groupes.

Classification des cryoglobulines (d'après Lecomte C et al, Spectra Biologie 2008)

Type	Composition
Type I monoclonal	Un seul isotype monoclonal
Type IIa mixte	Un isotype monoclonal associé à un ou plusieurs isotypes polyclonaux
Type IIb mixte	Un ou plusieurs isotypes oligoclonaux associés à un ou plusieurs isotypes polyclonaux
Type III mixte	Association de plusieurs isotypes polyclonaux

BIOPATHOLOGIE

Les cryoglobulines de type I et II sont généralement associées à une hémopathie lymphoïde (myélome, macroglobulinémie de Waldenström, leucémie lymphoïde chronique) ; les cryoglobulines de type II et III sont observées au cours de certaines maladies infectieuses, inflammatoires ou pathologies auto-immunes.

Leur recherche est indiquée :

- devant des signes cliniques évocateurs : signes cutanés et/ou vasomoteurs fréquemment déclenchés par le froid (purpura vasculaire, nécrose distale, urticaire, livedo, syndrome de Raynaud), manifestations rénales (glomérulonéphrite aiguë ou subaiguë), signes neurologiques (neuropathie périphérique), arthralgies, syndrome hémorragique ;

- devant l'observation d'anomalies biologiques : formation de précipités dans la seringue de prélèvement, variation de la vitesse de sédimentation, du nombre des globules blancs, des plaquettes ou des gammaglobulines, chez le même patient selon la température à laquelle est effectué l'examen, variations inexpliquées de la protidémie.

RECOMMANDATIONS PREANALYTIQUES

L'efficacité de la recherche dépend du respect strict des conditions de prélèvement et de coagulation.

■ PRELEVEMENT – CONSERVATION, TRANSPORT

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

■ QUESTIONS A POSER AU PATIENT

Contexte clinique et biologique (cf. indication de la demande) ?

Traitement anticoagulant en cours ? Un traitement par héparine empêche une bonne coagulation *in vitro*, ce qui peut gêner la recherche de cryoglobuline.

METHODES DISPONIBLES

La recherche d'une cryoglobuline nécessite de prélever dans des conditions strictes (cf. ci-dessus). Après la centrifugation, deux aliquotes de 2 ml sont réparties dans deux tubes stériles coniques en plastique transparent, bouchés et placés au minimum 8 jours à + 4 °C. Ils doivent être observés chaque jour ou tout au moins à 24 heures, 48 heures, 8 jours, et même jusqu'à 1 mois.

L'identification est réalisée par analyse immunochimique (immunofixation, immunoélectrophorèse ou immunoempreinte).

La quantification de la cryoglobuline peut faire appel à différentes techniques : détermination du cryocrite, dosage des protéines du cryoprécipité.

INTERPRETATION

■ RECHERCHE DE CRYOGLOBULINE

La recherche est négative en l'absence de précipité ou de gel dans les deux tubes conservés à + 4 °C pendant 10 jours. En cas de contexte clinique très évocateur, il convient de laisser les tubes à + 4 °C au moins une semaine supplémentaire (et jusqu'à un mois), avant de conclure. En outre, le phénomène de cryoprécipitation peut très rarement être intermittent ; de fait, il peut être utile de répéter la recherche à quelques jours d'intervalle.

La recherche est positive s'il apparaît un précipité blanc donnant un aspect en «volutes de fumée» lorsqu'il est remis en suspension dans le tube, ou plus rarement en gel, avec parfois, dans ce cas, une prise en masse complète du sérum. Le précipité ou le gel formé se redissout à la chaleur. Le plus souvent, le précipité se resolubilise à + 37 °C, mais parfois, une température supérieure (+ 40 - 45 °C) est nécessaire. Les cryoglobulines de type I (présentes en quantité importante) apparaissent souvent rapidement (48 heures) ; les cryoglobulines de type II ou III, en faible quantité, peuvent n'être détectées qu'au bout de 3 semaines à + 4 °C.

■ IDENTIFICATION

Des recommandations ont été émises par le **groupe de travail » Cryoglobulines » du Collège National de Biochimie des Hôpitaux en 2007.**

Le précipité est isolé après centrifugation (3500 rpm x 15 min à + 4 °C). Après élimination du surnageant, il est lavé 3 fois par une solution de chlorure de sodium à 0,9 %, maintenue à + 4 °C, d'un volume égal au volume initial de sérum. Puis le mélange est centrifugé (3500 rpm x 15 min à + 4 °C) afin d'éliminer toute trace de protéines non cryoprécipitantes. Enfin, le cryoprécipité est redissous dans 100 µL d'une solution de chlorure de sodium isotonique additionnée de 100 µL de Fluidil®, à 37 °C. Il convient de vortexer 20 secondes tous les quarts d'heure pour favoriser la redissolution pendant la première heure de mise au bain-marie et la dernière heure qui précède le dosage. La concentration de la cryoglobuline peut alors être déterminée par la méthode habituellement utilisée pour le dosage des protéines totales urinaires (seuil à 0,010 g/l). Le résultat est recalculé pour exprimer le taux en g/L en tenant compte du facteur de concentration du précipité soit 10 (2 mL de sérum ramenés à 200 µL de solution de redissolution). Le résultat brut du dosage est donc divisé par 10 pour ramener le taux de cryoglobuline par litre de sérum initial. Si le résultat du dosage est supérieur à 0,010 g/L, la cryoglobuline est rendue positive et l'identification réalisée par immunofixation.

■ INTERPRÉTATION

Une cryoglobuline mixte asymptomatique à une concentration < 0,01 g/l est retrouvée chez 2 à 3 % des sujets «sains» de plus de 60 ans.

Les cryoglobulines monoclonales sont retrouvées au cours des hémopathies lymphoïdes (5 à 10 % des immunoglobulines monoclonales du myélome ou de la macroglobulinémie de Waldenström cryoprécipitent).

Les cryoglobulines mixtes ou polyclonales sont associées :

- à des maladies auto-immunes : lupus érythémateux, syndrome de Gougerot-Sjögren, polymyosite, plus rarement polyarthrite rhumatoïde ou périartérite noueuse ;

- à des maladies virales : hépatite C (la prévalence d'une cryoglobulinémie mixte au cours d'une infection par le VHC varie entre 40 et 80 %), hépatite B, mononucléose infectieuse, infection par le VIH, le cytomegalovirus, l'EBV ;

- à des infections bactériennes ou parasitaires : endocardite subaiguë, syphilis, fièvre Q, maladie de Lyme, paludisme, toxoplasmose, schistosomiase... Les cryoglobulines sont alors généralement transitoires.

Parfois, aucune affection associée n'est retrouvée : la cryoglobuline est dite essentielle ou idiopathique.

■ PRINCIPAUX EXAMENS BIOLOGIQUES PERTURBES PAR LA PRESENCE D'UNE CRYOGLOBULINE

- Vitesse de sédimentation (élevée à + 37 °C, diminuée à + 20 °C),
- numération des leucocytes et des plaquettes, (pseudohyperleucocytose, pseudothrombocytose),
- diminution isolée du C4 sans baisse du C3 ni du CH50,
- dissociation TPHA-VDRL,
- dissociation latex – Waaler-Rose,
- protidémie (variations inexplicables),
- électrophorèse des protéines sériques (hypogammaglobulinémie, disparition d'un pic),
- recherche d'auto-anticorps.

Ces analyses doivent être réalisées à une température voisine de + 37 °C.

POUR EN SAVOIR PLUS

■ Intrator L., Pham B.N., *Cryoglobulines : méthode de détection et interprétation*, Le Cahier de formation Biologie médicale n° 28. Bioforma, Paris 2003 :85-103.

■ Szymanowicz A, Doche C, Coulhon M.-P., et al, Détection, caractérisation et interprétation des cryoglobulines, recommandations du groupe de travail » Cryoglobulines » du Collège National de Biochimie des Hôpitaux, Spectra Bio 2007 ;161:47-58.

■ Lecompte C. et le groupe de travail « cryoglobulines » du collège national de biochimie des hôpitaux. *Les cryoglobulines en pratique clinique*. Spectra Biologie 2008;168:41-48.