

Apport du test de dihydrorhodamine (DHR) dans le diagnostic de la granulomatose septique Chronique : A propos d'une série de 6 patients

Larab Z.¹, Belaid B.¹, LAMARA L.¹, Djidjik R.¹

¹Service d'immunologie médicale, Centre Hospitalo-Universitaire ISSAAD HASSANI Béni Messous, Alger



Introduction

La granulomatose septique chronique (GSC) est causée par des défauts génétiques dans les composants du complexe enzymatique NADPH oxydase responsable de la production des anions superoxydes nécessaires à la destruction des pathogènes.

L'évaluation diagnostique en laboratoire utilise soit le test au nitrobleu de tétrazolium (NBT), soit le test dihydrorhodamine DHR, plus sensible qui permet de distinguer les différentes formes génétiques de GSC.

Méthodes

Il s'agit d'une étude portant sur une série de 6 patients : 3 filles et 3 garçons dont 2 sont frère et sœur, avec une forte suspicion de GSC.

Le PHAGOBURST® ou test de DHR a été utilisé comme le montre la (figure 1) pour évaluer la production de composés oxygène activés des leucocytes dans du sang total collecté dans des tubes à héparine.

Ce kit contient des bactéries opsonisées non marquées (E. Coli), du PMA comme un mitogène puissant et le peptide chimiotactique fMLP comme faible stimulant, du DHR 123 comme un substrat fluorogène et les réactifs nécessaires (figure 1).

L'évaluation de ces bioactivités a été réalisée par cytométrie en flux (BD FACSCanto™).

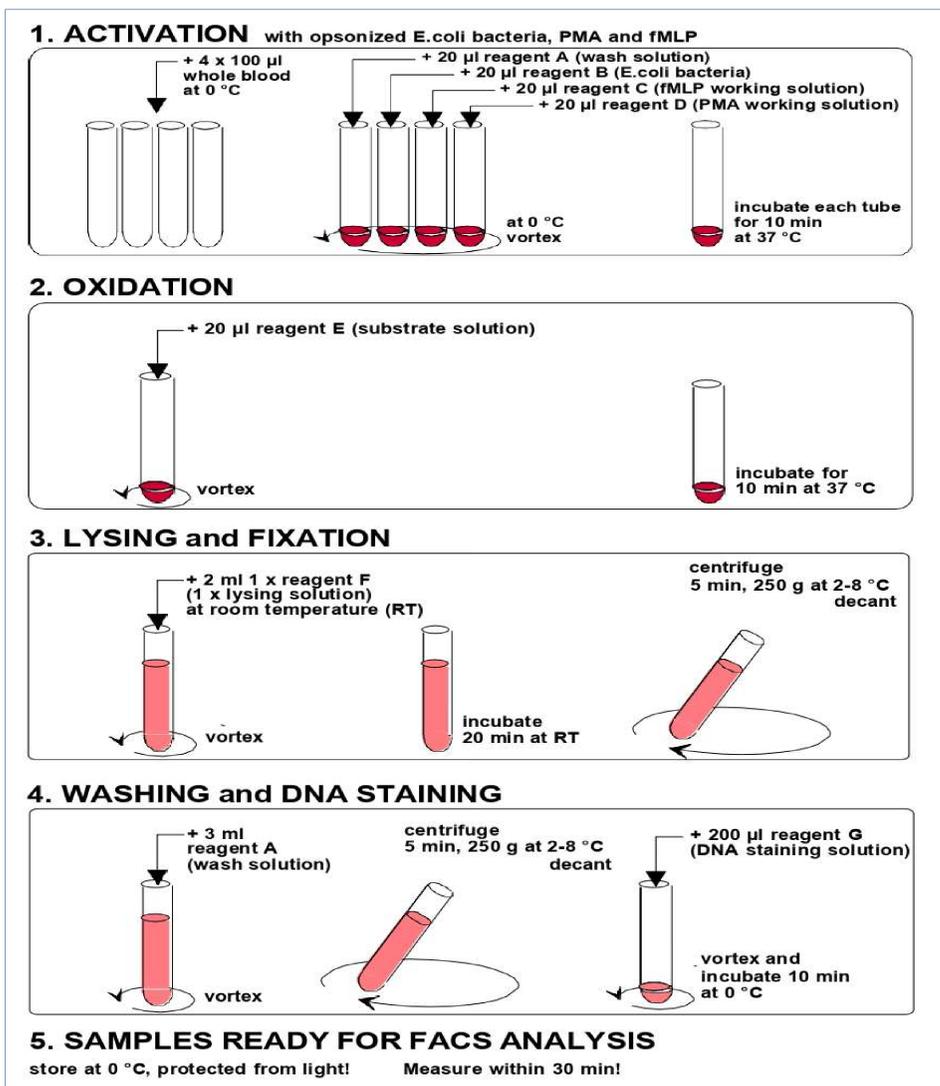


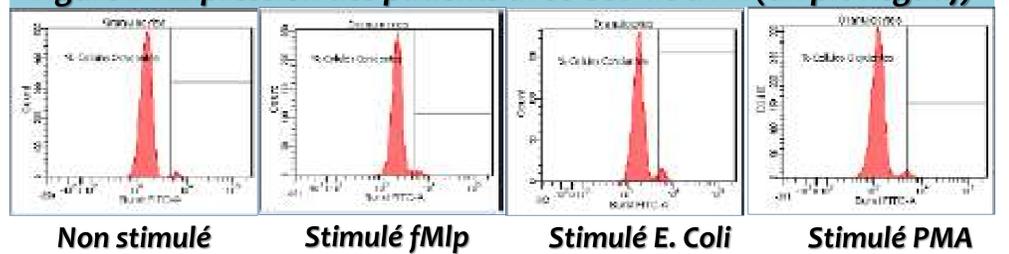
Figure 1 : Procédure de préparation d'échantillons

Résultats et discussion

2 garçons, dont les résultats ont montré une absence totale de l'oxydation de la DHR (0%) sur l'histogramme, présentait des caractéristiques cliniques d'anomalie des phagocytes (infections bactériennes et fongiques récurrentes) et pouvait présenter la forme liée à l'X de la maladie.

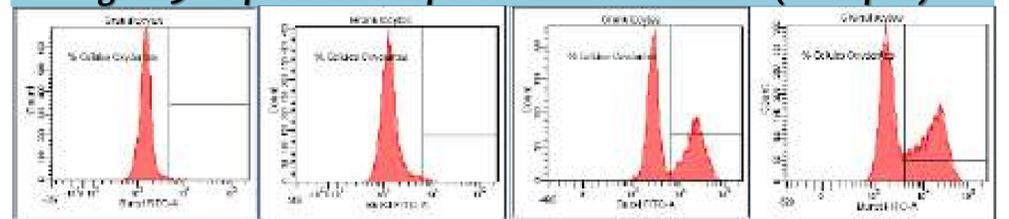
Après le diagnostic des patients de sexe masculin quelque soit la méthode, des tests maternels sont recommandés, car 17 % des patients porteurs de la forme liés à l'X peuvent présenter un schéma compatible avec la mutation P47 phox, et les patients avec la forme autosomiques récessifs présentent parfois une absence d'activité d'oxydation. Si la mère n'est pas porteuse de la CGD liée à l'X, le patient de sexe masculin doit subir des tests génétiques pour déterminer le type de la CGD.

Figure 2 : Expression des patients avec CGD lié à l'X (un pic négatif)



Non stimulé Stimulé fMlp Stimulé E. Coli Stimulé PMA

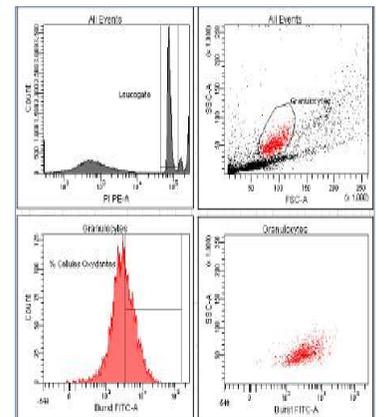
Figure 3 : Expression des porteurs de CGD lié à l'X (deux pics)



Non stimulé Stimulé fMlp Stimulé E. Coli Stimulé PMA

3 filles et 1 garçon ont présentés une oxydation partielle comme attendu dans la forme autosomique récessive de la GSC. Au moins une population de neutrophiles avec une oxydation considérablement réduite, contrairement aux patients avec GSC lié à X, qui n'a généralement pas de neutrophiles capables de monter une oxydation.

Les défauts génétiques sont variables, y compris les mutations par suppression, décalage de cadre de lecture, les mutations non-sens ou faux-sens. Les femmes porteuses de la CGD liée à l'X montrent une représentation inégale des phagocytes normaux et mutés en raison d'une lyonisation et peuvent être soit asymptomatiques, soit présentent une forme légère de CGD.



Conclusion

Le test DHR est une mesure quantitative et constitue un test rapide à réaliser ne nécessitant que de petits volumes de sang. Il fournit des modèles d'histogramme distinctifs rendant l'interprétation des résultats moins subjective et est capable de différencier les patients atteints de CGD liée à l'X et ceux porteurs de la CGD liée à l'X. Il est devenu la méthode de choix pour le dépistage et/ou le diagnostic des patients atteints de CGD.

Références

- Geri Dimitrova et al, Comparison of two methods for the diagnosis of chronic granulomatous disease – neutrophil oxidative burst measured by the nitroblue tetrazolium slide test versus the dihydrorhodamine 123 flow cytometric assay; NZ J Med Lab Science 2013.
- Dihydrorhodamine (DHR) Flow Cytometric Assay for Diagnosis of CGD; Mayo clinic-Mayo medical laboratories 2014
- Chronic granulomatous disease; BMJ Publishing Group Limited 2014.
- Stasia , P. Cathebras, M.-F. Lutz , I. Durieu , La granulomatose septique chronique, La Revue de Médecine Interne, Volume 30, Issue 3, Mars 2009.
- Granulomatose chronique par James Fernandez, MD, PhD, Cleveland Clinic Lerner College of Medicine at Case Western Reserve University Vérifié/Révisé janv. 2023.