

La cytologie nasale dans l'allergie respiratoire de l'enfant

P. RUFIN ¹, C. JEAN ², R. DACHEZ ³, R. JEAN ¹

RÉSUMÉ

La cytologie nasale peut apporter des renseignements utiles au diagnostic des rhinites allergiques de l'enfant mais elle est encore peu utilisée en pratique pédiatrique. Il est important, non seulement de collaborer avec un cytologiste connaissant bien le problème des sécrétions nasales qui sont forcément inhomogènes, mais aussi d'utiliser une technique correcte pour le recueil de ces sécrétions. La technique du mouchage s'applique particulièrement bien à l'enfant car elle est indolore et autorise des examens répétitifs. Elle a été validée par comparaison avec le brossage des cornets inférieurs en ce qui concerne le pourcentage d'éosinophiles. On peut donc l'utiliser au cours des tests de provocation nasale à un allergène, l'éosinophilie nasale augmentant significativement lors de la réponse immédiate mais sans l'afflux cellulaire qui caractérise au contraire la réponse tardive.

SUMMARY

Nasal cytology in paediatric respiratory allergy. – Nasal cytology can provide useful information for the diagnosis of allergic rhinitis in children but is still only occasionally used in paediatric practice. It is important, not only to collaborate with a cytologist who is very familiar with the problem of nasal secretions, which are inevitably heterogeneous, but also use a correct technique for the collection of these secretions. The noseblowing technique is particularly suitable in children, as it is painless and allows repeated examinations. It has been validated by comparison with inferior turbinate brushing in terms of the percentage of eosinophils. It can therefore be performed during nasal provocation tests using an allergen, as nasal eosinophilia increases significantly during the immediate response, but without the influx of cells characteristic of the delayed response.

Les rhinites allergiques de l'enfant sont fréquentes mais parfois difficiles à reconnaître du fait de l'infection souvent surajoutée. Il importe d'une part d'en faire le diagnostic car on dispose alors de mesures préventives et thérapeutiques efficaces mais d'autre part de ne pas en surestimer la fréquence afin d'éviter au patient une thé-

rapeutique inutile. La cytologie nasale est connue de longue date [1, 2] mais son utilisation pratique est peu développée, le pédiatre et l'ORL ayant surtout recours aux tests sériques, plus onéreux et qui peuvent être mis en défaut, notamment chez le jeune enfant.

Nous envisagerons ici l'intérêt de la cytologie nasale dans l'allergie respiratoire de l'enfant tant en vue du diagnostic de la nature allergique que de la réalisation de tests de provocation nasale à un allergène suspecté.

1. Laboratoire d'Exploration Fonctionnelle Respiratoire, Service de Pneumologie et d'Allergologie Infantiles (Pr Scheinmann), Hôpital Necker - Enfants Malades, 149, rue de Sèvres, 75743 PARIS Cedex 15.

2. Laboratoire de Recherche Thermale, 38580 ALLEVARD.

3. Institut Alfred-Fournier, Département d'anatomie pathologique, 75014 PARIS.

Tirés à part : Dr R. Jean (adresse ci-dessus).

Reçu le 23 octobre 1996.

INTÉRÊT DIAGNOSTIQUE DANS LES RHINITES CHRONIQUES OU RÉCIDIVANTES

Il est important, non seulement de collaborer avec un cytologiste averti, mais aussi de recueillir correctement les sécrétions nasales.

Recueil des sécrétions nasales

Plusieurs techniques ont été utilisées chez l'adulte :

- le lavage des fosses nasales [3] avec 5 ml de sérum physiologique séjournant pendant 20 à 30 secondes dans chaque fosse nasale, la tête étant rejetée en arrière, puis le liquide recueilli en penchant la tête vers l'avant. Le liquide obtenu doit être rapidement centrifugé sur cytospin. Il s'agit de la technique de référence mais elle est difficilement applicable à un enfant non entraîné ;

- le brossage des cornets inférieurs : ses résultats ont été comparés à ceux du lavage chez l'adulte [4] et nous l'avons également utilisé chez l'enfant [5] en comparant les résultats avec ceux du mouchage. Mais dans notre expérience elle est considérée comme désagréable par un enfant sur deux et ne peut donc être utilisée de façon répétée, au cours d'un test de provocation nasale ;

- la méthode des empreintes [6] qui consiste à appliquer un film de gélatine sur la muqueuse nasale et à coller ensuite ce film sur une lame de verre. Elle nécessite une bonne collaboration du patient et n'a pas été utilisée chez l'enfant ;

- le grattage ou scrapping [7] utilise une tige avec une extrémité en dacron appliquée sur la muqueuse. Elle peut être utilisée chez le petit enfant ;

- le mouchage a été utilisé autrefois [8, 9] puis oublié. Il a été remis en honneur chez l'adulte [10] et nous l'utilisons en routine chez l'enfant [11] depuis plusieurs années de la façon suivante. Après un mouchage préalable pour éliminer les croûtes et les sécrétions stagnantes, nous instillons dans chaque narine 0,1 à 0,2 ml de sérum physiologique et posons un pince-nez pendant 10 à 15 minutes. Puis l'enfant se mouche, narine après narine, directement sur une lame de verre. Les sécrétions provenant des deux narines sont étalées avec une lamelle et séchées à l'air. Elles sont ensuite adressées au laboratoire de cytologie pour coloration et lecture. Cette technique du mouchage permet également une appréciation visuelle de la qualité des sécrétions.

Techniques cytologiques

Il n'est pas question ici d'entrer dans le détail de ces techniques. Celle que nous utilisons a été mise au point par Pfister [12]. Deux colorations sont habituellement utilisées : celle de May-Grunwald-Giemsa bien connue et celle de Luna [13] qui permet une coloration sélective des éosinophiles. Cette double coloration implique la préparation de plusieurs lames. La lecture des lames se fait au microscope optique et nécessite une bonne habitude car il faut établir une moyenne sur un certain nombre de champs du fait du caractère non homogène des sécrétions nasales. On tient compte de :

- la densité cellulaire globale que l'on codifie en général par une échelle allant de 0 à ++++. Elle permet de savoir si la rhinite est actuellement inflammatoire ;

- la numération des éléments figurés qui se fait en pourcentage comme pour une formule sanguine. Dans le cadre de la rhinite allergique, l'élément important est le calcul du pourcentage d'éosinophiles, par rapport aux autres cellules et en particulier les neutrophiles qui sont les cellules prédominantes. Nous aurons l'occasion de voir plus loin quel est le taux minimum pour parler de rhinite à éosinophiles. Les cellules épithéliales sont habituellement exclues de ce compte cellulaire. Les mastocytes sont absents ou très rarement retrouvés lorsque les sécrétions sont recueillies par mouchage et même par lavage, alors qu'on en retrouve en quantité non négligeable dans les brossages. Le cytologiste peut aussi apprécier la charge en granules des éosinophiles témoignant d'une activation de ces cellules et visualiser leur dégranulation. Il n'est pas possible par contre de mettre en évidence une dégranulation des mastocytes, phénomène sans doute très précoce et bref ;

- l'existence ou non d'une infection manifestée par une altération des neutrophiles et la présence de cocci, de bactéries et rarement de filaments mycéliens. Cette infection est bien entendu très fréquente dans les rhinites non allergiques mais elle peut se voir également dans les rhinites allergiques du jeune enfant. Dans notre expérience, l'existence d'une infection locale ne fait pas disparaître l'éosinophilie et n'empêche donc pas de porter le diagnostic de rhinite à éosinophiles.

On connaît l'existence de rhinites non allergiques à éosinophiles (NARES) pour lesquels l'éosinophilie locale est au moins de 25 p. cent [14]. Des cas ont été décrits chez l'enfant [15] mais ils sont très rares. Dans tous les cas, la découverte d'une rhinite à éosinophiles conduit à pratiquer une enquête allergologique qui se révélera négative s'il s'agit d'un NARES.

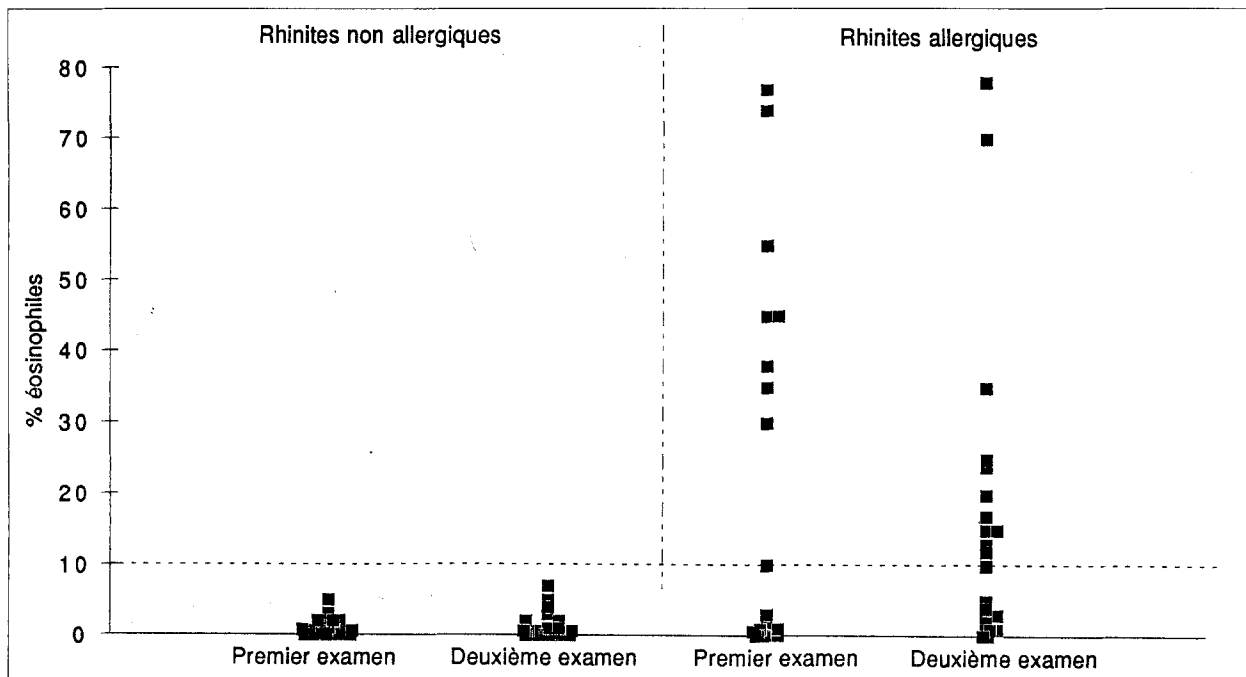


Fig. 1. – Deux prélèvements par mouchage du mucus nasal ont été effectués à 20 jours d'intervalle chez 32 rhinites non allergiques et 25 rhinites allergiques séjournant dans un établissement spécialisé d'Allevard. Le compte des cellules montre que seuls les allergiques peuvent atteindre ou dépasser le seuil de 10 p. cent.

Valeur de l'éosinophilie nasale (EN) dans le diagnostic des rhinites allergiques

Voici les résultats de la cytologie nasale dans deux populations de rhinites de l'enfant :

Première population

Cinquante-sept enfants présentant une rhinopathie chronique avec ou sans manifestations bronchiques ont été recrutés dans un établissement spécialisé d'Allevard. Ces enfants ont eu 2 prélèvements par la technique du mouchage à 20 jours d'intervalle, en dehors de la saison pollinique et dans un environnement dépourvu des principaux pneumallergènes (acariens, poils d'animaux). Aucun de ces enfants ne recevait d'antihistaminique, ni de corticoïdes même sous forme inhalée. Ils ont été séparés en 2 groupes en se basant sur un questionnaire établi par la famille et le médecin traitant de chaque enfant : 25 rhinites allergiques et 32 rhinites non allergiques [12]. La figure 1 montre que le seuil d'EN de 10 p. cent n'est atteint ou dépassé que dans le groupe des enfants allergiques : 9 patients sont ainsi détectés au premier examen et 12 au deuxième examen. Du fait des variations individuelles (fig. 2), 15 sur 25 patients ont une EN ≥ 10 p. cent à au moins un des deux examens. Dans cette même figure, on individualise 2 patients qui ont une EN forte, supérieure à 50 p. cent, lors des deux

examens. La signification de ces fortes éosinophilies nasales chez des enfants allergiques n'est pas connue.

Deuxième population

Soixante-dix-sept enfants souffrant de rhinite chronique avec ou sans asthme ont été adressés au laboratoire d'exploration fonctionnelle respiratoire de l'hôpital des Enfants Malades par la consultation d'allergologie. Ces enfants avaient tous eu des tests cutanés et des dosages des IgE spécifiques par la technique du RAST : 59 étaient présumés avoir une rhinite allergique et 18 une rhinite non allergique. Les prélèvements ont été pratiqués en dehors de tout traitement (antihistaminique, cromones, corticoïdes en topique nasal, corticoïdes inhalés et corticoïdes per os). Un mouchage effectué comme précédemment, puis un brossage des cornets inférieurs ont été réalisés chez ces patients symptomatiques. Une excellente concordance entre les deux méthodes a été trouvée [5]. Dans le groupe des enfants présentant une rhinite non allergique, un seul patient avait une EN à 5 p. cent, les 17 autres avaient une EN entre 0 et 5 p. cent. Dans le groupe des enfants présentant une rhinite allergique, l'EN était supérieure à 10 p. cent chez 42, comprise entre 5 et 10 p. cent pour 11, et inférieure à 5 p. cent chez 6. Le seuil de 6 p. cent semble être un bon critère pour affirmer le diagnostic de rhinite allergique de l'enfant.

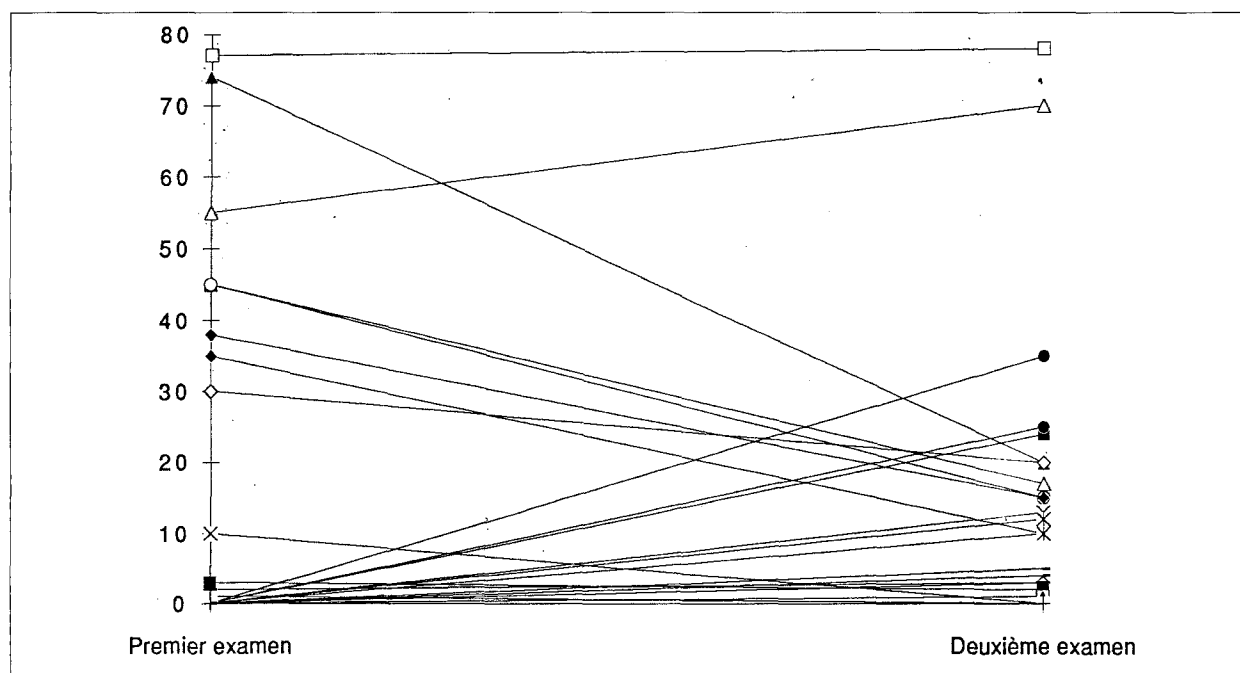


Fig. 2. – Variations individuelles du pourcentage de l'éosinophilie nasale à 20 jours d'intervalle dans 25 rhinites allergiques : 15 ont une éosinophilie nasale $\geq$ à 10 p. cent à au moins 1 des 2 examens, 2 patients ont une éosinophilie $>$ à 50 p. cent aux 2 examens.

UTILISATION DANS LES TESTS DE PROVOCATION NASALE

Avant d'entreprendre une désensibilisation spécifique ou l'éviction d'un allergène devant une rhinite gênante ou un asthme, il faut être certain de la responsabilité de cet allergène. L'anamnèse, les tests cutanés, les dosages des IgE spécifiques suffisent dans la majorité des cas. Il reste toutefois des enfants pour lesquels il est difficile d'affirmer avec certitude le rôle d'un allergène : la réponse à un test de provocation nasale (TPN) spécifique à l'allergène est alors un élément important du diagnostic. Il peut être utilisé même chez les enfants asthmatiques ne se plaignant pas de rhinite [11]. Il représente alors une alternative au test de provocation bronchique. Les conditions de réalisation du TPN sont bien codifiées et doivent être respectées [16]. Un certain nombre de médicaments doivent être arrêtés avant le TPN. L'instillation d'allergène au niveau d'une muqueuse nasale sensibilisée provoque une réaction immédiate qui survient au bout de quelques minutes. Cette réaction immédiate est suivie dans un certain nombre de cas par une réponse tardive. Lors de la réaction immédiate, la positivité du test est affirmée sur 2 critères : le doublement de la résistance nasale totale mesurée par rhinomanométrie active (RNM) et par l'augmentation d'au moins 5 points du score clinique. Plusieurs scores ont été proposés, en particulier ceux de Naclerio [17] et de Bousquet [18]. Nous préférons l'utilisation d'un score que nous avons nous-même établi chez

l'enfant (tableau I). La mesure des résistances nasales est parfois difficile chez l'enfant : la RNM postérieure n'est pas réalisable de façon satisfaisante dans un certain nombre de cas. La RNM antérieure qui nécessite une mesure au niveau d'une narine puis de l'autre, est plus longue. Parfois, la réaction immédiate n'est pas progressive mais brutale, s'accompagnant d'une forte rhinorrhée et de modifications de la visco-élasticité des sécrétions. Les résistances nasales n'augmentent pas alors, surtout si l'on a pris soin d'évacuer toutes les sécrétions. Dans ce cas, la positivité du test est affirmée sur l'évolution du score clinique et sur les résultats de la cytologie nasale. La cytologie qui représente une technique d'appoint lors de la réaction immédiate est surtout utile pour suivre la réaction tardive. Elle représente un critère objectif de positivité du TPN, et évite de faire des mesures répétées des résistances nasales qui obligerait l'enfant et ses parents à revenir à l'hôpital. En effet, les prélèvements peuvent être aisément effectués à domicile par les parents.

L'évolution habituelle de l'EN lors d'un TPN peut se résumer ainsi :

- À l'état basal, le taux d'EN est variable : il doit être inférieur à 50 p. cent pour permettre une interprétation ultérieure de ses variations.

- Après application de sérum physiologique (test contrôle) on peut observer une augmentation modérée mais significative de l'EN, peut être liée à des sécrétions provenant des sinus. Cette deuxième valeur est considérée comme le taux de base.

Tableau I. – Score clinique pour les tests de provocation nasale chez l'enfant

Symptômes	Score
Éternuements	
1-4	1
> 4	3
Rhinorrhée	
+	1
++	2
+++ et élastique	4
Obstruction nasale	
Discrète	1
Totale d'1 narine	2
Totale des 2 narines	3
Autres	
Prurit nasal	1
Conjonctivite	1
Toux	1
Asthme (ou RVA x 2)	2
Maximun	15

– Lors de la réponse immédiate (qui survient après 1, 2 ou 3 doses d'allergène), la densité cellulaire n'est en général pas augmentée mais l'EN est modifiée de façon significative (augmentation de plus de 10 %). Les éosinophiles peuvent apparaître dans les sécrétions au bout de 15 à 20 minutes après la contact avec l'allergène. Parfois, lorsque la réaction a été intense, le cytologiste ne peut étudier les sécrétions qui ne se sont pas fixées sur la lame du fait soit de l'hydrorrhée soit d'une modification de l'élasticité.

– L'étude de la réaction retardée est confiée aux parents qui ont assisté aux prélèvements cytologiques de la réponse immédiate. Des lames numérotées leur sont remises pour les prélèvements qui sont effectués 4, 12, 24 et 36 heures après application de l'allergène. Les lames une fois séchées sont adressées au laboratoire de cytologie, ainsi qu'un questionnaire sur lequel les parents indiquent l'évolution des symptômes cliniques. Lors de la réaction tardive, la densité cellulaire augmente et l'EN s'élève de façon importante, pouvant dépasser 50 p. cent. La réaction tardive peut être uniquement cytologique ou s'accompagner de signes cliniques et/ou de rhinite [17, 19]. Chez l'asthmatique, il n'y a pas d'augmentation de la résistance bronchique lors de la réaction immédiate [11] si l'allergène est instillé lors d'une apnée et si un pince-nez est immédiatement mis en place pour éviter le reniflement. Par contre, une réaction bronchique peut survenir lors de la réaction tardive. Il est donc important de prévenir la famille et de prescrire un traitement éventuel (corticoïdes per os pendant 48 heures).

CONCLUSION

La cytologie nasale est une technique d'appoint dans les tests de provocation nasale où elle permet d'étudier facilement la réaction tardive. Elle pourrait être utilisée plus souvent pour le diagnostic des rhinites allergiques du fait de la simplicité de la technique du mouchage, de son faible coût, mais elle demande la collaboration d'un cytologiste s'intéressant aux sécrétions nasales.

RÉFÉRENCES

- Hansel F.K. – Clinical Allergy. Saint Louis: The C.V. Mosby Company, 1953.
- Mygind N. – Nasal Allergy. Oxford. 2nd ed: Blackwell Scientific Publications, 1979.
- Naclerio R., Proud D., Togias A. *et coll.* – Inflammatory mediators in late antigen-induced rhinitis. *N. Engl. J. Med.*, 1985, 313, 65-69.
- Juliusson S., Pipkorn U., Karlsson G., Enerback L. – Mast cells and eosinophils in the allergic mucosal response to allergen challenge: changes in distribution and signs of activation in relation to symptoms. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1992, 90, 898-909.
- Jean R., Delacourt C., Rufin P. *et coll.* – Nasal cytology in rhinitis children: comparison between brushing and blowing the nose. *Allergy*, 1996, 51, 932-934.
- Pipkorn U., Enerback L. – A method for the preparation of inprints from the nasal mucosa. *J. Immunol. Methods*, 1984, 73, 133-137.
- Meltzer E.O., Zeiger R.S., Schatz M., Jalowatski A.A. – Chronic rhinitis in infants and children: etiologic, diagnostic and therapeutic considerations. *Pediatr. Clin. North Am.*, 1983, 30, 847-871.
- Crawford L.V. – A study of the nasal cytology in infants with eczema dermatitis. *Ann. Allergy*, 1960, 18, 59-64.
- Murray A.B. – Nasal secretion eosinophilia in children with allergic rhinitis. *Ann. Allergy*, 1970, 28, 142-148.
- Pelikan Z., Pelikan Filippek M. – Cytologic changes in the nasal secretions during the immediate nasal response. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1988, 82, 1103-1112.
- Jean R., Lellouch-Tubiana A., Brunet-Langot D. *et coll.* – Nasal eosinophilia in children: its use in the nasal allergen provocation test. *Diagn. Cytopathol.*, 1988, 4, 23-27.
- Pfister A. – Rhinites et cytologie nasale: intérêt diagnostique. In: Wayoff M., Paliwoda A. *Immunité et inflammation en ORL*. Paris: John Libbey Eurotext, 1991, pp. 97-107.
- Luna L.S. – Manual of histological methods of the Armed Forces Institute of Pathology. New York 3d ed: Mc Graw Hill, 1968, pp 111-112.
- Mullarkey M.F., Hill J.S., Webb D.R. – Allergic and non allergic rhinitis: their characterization with attention to the meaning of nasal eosinophilia. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1980, 65, 122-126.
- Rupp G.M., Friedman R.A. – Eosinophilic non allergic rhinitis in children. *Pediatrics*, 1982, 70, 437-439.
- Jean R., Rufin P. – Tests de provocation nasale aux allergènes. In: de Blic J., Scheinmann P. *L'asthme*. Paris: Doin, 1995, pp 209-218.
- Bascom R., Pipkorn U., Lichtenstein L.M., Naclerio R.M. – The influx of inflammatory cells into nasal washings during the late response to antigen challenge. Effect of systemic steroid pretreatment. *Am. Rev. Respir. Dis.*, 1988, 138, 406-412.
- Bousquet J., Lebel B., Dhivert A. *et coll.* – Nasal challenge with pollen grains, skin prick tests and specific IgE in patients with grass pollen allergy. *Clin. Allergy*, 1987, 17, 529-536.
- Pastorello E.A., Riario Sforza G.G., Incorvasa C. *et coll.* – Comparison of rhinomanometry, symptom score and inflammatory cell counts in assessing the nasal late phase reaction to allergen challenge. *J. Allergy Clin. Immunol.*, 1994, 93, 85-92.