



Histoire des marqueurs sérologiques de la polyarthrite rhumatoïde

René-Louis HUMBEL

I. Le facteur agglutinant

Le premier autoanticorps associé à la polyarthrite rhumatoïde (PR) a été découvert en décembre 1937 par le norvégien Eric Waaler grâce à l'agglutination de globules rouges de mouton sensibilisés par des immunoglobulines de lapin anti-mouton. Cette observation sera confirmée en 1948 par Melvin Rose avec le sérum de sa collaboratrice atteinte de PR, puis avec celui de plusieurs autres malades. Ce « facteur agglutinant » fut alors dénommé « facteur rhumatoïde » (FR) et la réaction d'héماغglutination de Waaler-Rose devint le test sérologique de la PR. En 1956, Jacques Singer et Charles Plotz développent un autre test d'agglutination qui utilise des microparticules de latex sensibilisées par des immunoglobulines humaines. Plus facile à utiliser, le test au latex va devenir la réaction la plus largement répandue dans les laboratoires de routine pour la recherche du FR. A partir des années 1980, des méthodes néphélométriques puis turbidimétriques basées sur la précipitation des immunoglobulines seront introduites. Le FR est un anticorps, principalement de la classe des IgM, qui reconnaît des déterminants antigéniques exprimés sur le fragment Fc des immunoglobulines G. La présence de FR dans le sérum fait partie des critères de diagnostic de la PR définis par l'Association Américaine de Rhumatologie. Sa sensibilité est voisine de 80 %, sa spécificité dépend de la méthode utilisée et du contexte clinique dans laquelle elle est appliquée.

II. Les anticorps contre des antigènes des épithéliums kératinisants

Le second anticorps de la PR est décrit en 1964 par les hollandais Nienhuis et Mandena qui utilisaient l'immunofluorescence indirecte sur des cellules de la muqueuse buccale humaine pour la recherche des anticorps antinucléaires. Dans le sérum de patients atteints de PR, les

Sommaire

- *page 1*
Histoire des marqueurs sérologiques de la polyarthrite rhumatoïde
- *page 4*
Exploration biologique de la polyarthrite rhumatoïde
- *page 10*
Les anticorps anti-protéines/peptides citrullinés remplaceront-ils les facteurs rhumatoïdes dans les critères diagnostiques de la polyarthrite rhumatoïde ?
- *page 10*
Évolution des marqueurs associés à la polyarthrite rhumatoïde chez des patients traités au long cours par un inhibiteur du TNF α
- *page 19*
Calendrier des manifestations
- *page 20*
Liste des membres

auteurs notent la présence d'un anticorps qui marque de grosses granulations cytoplasmiques entourant le noyau et auquel ils vont donner le nom de « facteur antipérimucléaire » (APF). L'existence de ces anticorps sera rapidement confirmée en Italie, puis peu à peu dans d'autres pays, malgré leur procédure fastidieuse de mise en évidence qui nécessite la récolte de cellules épithéliales par grattage de la partie interne de la joue chez un donneur potentiel. Les APF sont signalés dans 39 à 87 % des PR, avec une spécificité de 73 à 99 %. L'identification de la cible antigénique va progressivement montrer que celle-ci est localisée dans les grains de kératohyaline et qu'elle est constituée de la (pro) filagrine, le précurseur d'une protéine, la filagrine, qui assure l'agrégation des filaments de kératine.

En 1979, l'anglais Young décèle dans le sérum de patients atteints de PR des anticorps qui se fixent, en immunofluorescence indirecte, sur la couche cornée de l'œsophage de rat. Cette localisation histologique fait assimiler, à tort, ces anticorps à des anti-kératine (AKA). Grâce à la facilité d'obtention des coupes d'œsophage de rat, la recherche des AKA a trouvé une large utilisation dans les laboratoires. Les AKA sont présents dans près de 60 % des PR et avec une très grande spécificité. En 1993, l'équipe toulousaine de Guy Serre a pu montrer que les AKA reconnaissent la filagrine. Les auteurs ont également confirmé l'identité de ces anticorps anti-filagrine (AFA) avec les APF. Une fois identifiée, la filagrine a été utilisée comme antigène pour la recherche des anticorps de la PR, par Western blot et ELISA. Il apparut que la sensibilité de ces méthodes était très variable, de 12 à 47 %.

III. Les anticorps anti-protéines et peptides citrullinés

Un rebondissement spectaculaire de la situation survient en 1998 lorsque les hollandais Schellekens et Col démontrent que des résidus de citrulline présents sur la filagrine sont des constituants essentiels des épitopes reconnus par les autoanticorps anti-filagrine. Pour cela, ils synthétisent des peptides dans lesquels les résidus d'arginine sont substitués par de la citrulline. Ces peptides citrullinés réagissent fortement avec les autoanticorps du sérum des patients avec PR. Girbal-Neuhausser et coll. montrent en 1999 que les résidus de citrulline sont générés par une réaction posttraductionnelle sur différents sites de la filagrine. Il s'agit d'une réaction de désimination des résidus d'arginine par une enzyme, la peptidyl-arginine-désiminase. En 2000, la société hollandaise Euro-Diagnostika commercialise un premier ELISA utilisant comme antigène un peptide synthétique

dérivé de la séquence de la filagrine humaine, citrulliné et cyclisé (CCP1). Une meilleure sensibilité est obtenue par le remplacement, en 2002, de CCP1 par un mélange d'autres peptides synthétiques (CCP2) n'ayant plus aucune homologie avec la filagrine. En 2005, la société INOVA introduit un nouveau peptide synthétique (CCP3). Ces nouvelles versions se sont avérées plus sensibles pour le diagnostic de la PR, atteignant 90 % pour les formes les plus sévères de la maladie. En 2001, la filagrine de rat recombinante et citrullinée « in vitro » est proposée comme antigène dans un test ELISA qui sera commercialisé par la société GENESIS.

En 1994, l'équipe canadienne de Desprès et Boire identifie, par Western blot avec un extrait de placenta ou de rat, une protéine de 50 kD qui réagit avec le sérum d'une patiente (Mme Sa.) atteinte de PR. Ils donnent le nom de Sa à cet antigène, et anti-Sa aux anticorps correspondants. Ces derniers sont retrouvés par la suite chez 43 % des malades avec PR. En 2000, Henri Mesnard publie la séquence de la protéine Sa qui est identique à celle de la vimentine, une protéine largement exprimée dans la synoviale enflammée. Puis, en 2004, il est montré que l'antigène Sa correspond à la vimentine citrullinée. Un nouveau test ELISA est alors développé, en 2006, par la société ORGENTEC, basé sur l'utilisation d'une isoforme mutée de la vimentine isolée de la synoviale rhumatoïde et citrullinée in vitro (MCV). En 2001, Masson-Bessière et col découvrent que d'autres protéines citrullinées, présentes en grandes quantités dans la synoviale rhumatoïde, sont reconnues par le sérum de patients atteints de PR. Ils montrent que ces protéines sont les chaînes α et β citrullinées de la fibrine. Un ELISA utilisant le fibrinogène citrulliné a été développé. En 2002, Saulot et coll. de Rouen, mettent en évidence une protéine réagissant avec le sérum de 25 % des malades avec PR, qui, isolée et séquencée, s'est révélée correspondre à l' α -énolase. En 2005, un groupe anglais a pu démontrer que la protéine isolée d'un lysat de cellules promyélocyaires HL60 est l' α -énolase citrullinée avec laquelle 46 % des patients avec PR montrent une forte réactivité. De nouveaux peptides citrullinés commencent à faire leur apparition. Les italiens Merlini et col montrent en 2005 que l'une des protéines du virus d'Epstein-Barr, EBNA1, contient dans sa région N-terminale une séquence d'acides aminés riche en arginine. Cette séquence a été synthétisée en transformant les résidus d'arginine en citrulline. Un test commercial basé sur l'utilisation de ce peptide a été récemment mis sur le marché par la firme ASTRA.

IV. Les autres autoanticorps décrits dans la PR

A partir de la fin des années 80 plusieurs auto-anticorps seront mis en évidence dans le sérum des patients avec PR, par Western blot, puis par immunocriblage de banques de cDNA de diverses cellules. En 1989, les autrichiens Hassfeld et Steiner isolent une protéine de 33 kD qui est reconnue par 36 % des sérums de malades avec PR et qui a été dénommée RA33. En 1992, la protéine est identifiée à la protéine A2 du complexe des ribonucléoprotéines nucléaires hétérogènes (hnRNP). L'existence des anticorps anti-RA33 sera confirmée par plusieurs équipes, dont Olivier Meyer à Paris. Leur fréquence dans la PR est cependant faible (30-40 %) et ils en sont surtout peu spécifiques puisqu'ils sont retrouvés chez 30 % des lupiques et 60 % des malades avec une connectivité de Sharp.

En 1995, Desprès et coll. détectent, par criblage d'une banque de cDNA de placenta humain avec le sérum de patients atteints de PR érosive, un clone (RA-1) codant pour la calpastatine. Les anticorps correspondants sont retrouvés chez 45 % des patients avec PR, mais également dans un grand nombre d'autres affections (connectivites, psoriasis, thrombose). Plus récemment, en 2004, une équipe japonaise a pu obtenir des résultats plus performants avec un ELISA utilisant comme antigène la calpastatine native, isolée des globules rouges humains.

En 1995, les allemands Bläss et coll. montrent, par Western blot avec un extrait de membrane synoviale, qu'une protéine de 68 kD est reconnue par le sérum de 64 % des patients avec PR, et avec une spécificité de 93 %. La protéine antigénique a été identifiée en 1996 à la protéine BiP (heavy chain binding protein) et à la protéine Grp78 (Glucose-regulated protein 78). L'existence de ces anticorps n'a jamais été confirmée par la suite.

En 1996, à partir d'extraits de synoviocytes, les japonais Tanaka et col isolent deux protéines. La première est un polypeptide de 40 kD apparenté à la follistatine qui est reconnu par le sérum de 30 % des malades avec PR. La seconde est une glycoprotéine de 130 kD, la gp130, dont l'extrémité C-terminale est l'épitope immunodominant pour les anticorps du sérum des PR. La sensibilité de ces épitopes pour la PR est de 73 %, leur spécificité proche de 97 %. Ces observations n'ont pas été confirmées par d'autres équipes. En 1999, Ukaji et col isolent une autre protéine antigénique de 40 kD reconnue par les anticorps du sérum de malades avec PR, l'aldolase A. Celle-ci ne réagit avec les anticorps que dans sa forme dénaturée. Par Western blot on les retrouve chez 40 % des

malades avec PR. La découverte d'anticorps anti-glucose-6-phosphate isomérase (GPI) chez la souris K/BxN souffrant d'une arthrite inflammatoire voisine de la PR humaine a incité l'équipe de Monique Schaller à rechercher les anticorps anti-GPI dans le sérum des malades atteints de PR. Par ELISA, avec la GPI purifiée du foie, les auteurs montrent la présence de ces anticorps chez 64 % des malades avec PR, contre seulement 3 % des sujets témoins. Publiés dans la revue Nature, ces résultats suscitent immédiatement un grand intérêt. Mais très rapidement d'autres chercheurs infirment ces résultats. Les allemands Schubert et coll. de Berlin montrent d'abord que la GPI utilisée par Schaller est un extrait contaminé par de nombreuses autres protéines, dont la CKMM contre laquelle ils mettent en évidence sa réactivité avec le sérum des malades avec PR. D'autres chercheurs, en Suisse puis en Angleterre, vont enfin montrer qu'il n'existe aucune réactivité des sérums des malades atteints de PR avec la GPI recombinante.

Parmi les nombreux autoanticorps qui ont été décrits dans la PR, seuls le facteur rhumatoïde et les anticorps anti-protéines ou anti-peptides citrullinés ont un réel intérêt diagnostique. Ce sont les marqueurs les plus spécifiques permettant d'identifier le plus précocement possible les PR les plus agressives et qui sont susceptibles de bénéficier des nouvelles biothérapies.

Références

Humbel RL. Histoire des facteurs rhumatoïdes. GEAI l'info. 2000 ; 3:1-3.

Fabien N, Monier JC. Les autoanticorps anti-filagrine. GEAI l'info. 2000 ; 3:7-18.

Humbel RL, NO Olsson. Le point sur les auto-anticorps anti-protéines et anti-peptides citrullinés. Biotribune. 2005 ; 17:34-6.

Corrigall VM, Panayi GS. Autoantigens and immune pathways in rheumatoid arthritis. Crit Rev Immunol. 2002 ; 22 : 281-93.

van Boekel MAM, Vossenaar ER, van den Hoogen FHJ, van Venrooij WJ. Autoantibody systems in rheumatoid arthritis : specificity, sensivity and diagnostic value. Arthritis Res. 2002 ; 4 : 87-93.

Bläss S, Engel JM, Burmester GR. The immunologic homunculus in rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum. 1999 ; 42 : 2499-2506.



Exploration biologique de la polyarthrite rhumatoïde

Joëlle GOETZ, Nicole FABIEN, Jean SIBILIA

Le diagnostic de la polyarthrite rhumatoïde (PR) repose sur un ensemble de critères définis par l'American College of Rheumatology (ACR), le seul critère biologique étant la présence de facteurs rhumatoïdes (tableau 1). En pratique, il est cependant rare que la PR soit d'emblée séropositive, nodulaire ou érosive. Le diagnostic de la PR au début repose sur un faisceau d'arguments cliniques, biologiques et radiologiques. L'exploration biologique va apporter une aide au diagnostic, au pronostic et au suivi de la maladie :

- les facteurs rhumatoïdes (FR) et les anticorps (Ac) anti-peptides ou protéines citrullinés (APPC) sont des marqueurs diagnostiques de la PR ;
- la recherche des anticorps antinucléaires permet d'éliminer une connectivite ;
- l'augmentation importante des marqueurs de l'inflammation (vitesse de sédimentation - VS - et C-réactive protéine - CRP-), des titres élevés de FR et la présence d'APPC au départ constituent des facteurs de mauvais pronostic ;
- un syndrome inflammatoire biologique important est un signe d'activité de la PR.

I. La biologie, une aide au diagnostic de la maladie

1. Les marqueurs biologiques non spécifiques (1)

Un syndrome inflammatoire biologique (augmentation de la VS et de la CRP) est présent dans 80 à 90 % des cas de PR débutante ou en phase d'état. Une anémie modérée de type inflammatoire est souvent associée au syndrome inflammatoire, la leucopénie (faisant partie ou non d'un syndrome de Felty) est très rare, le nombre de plaquettes est souvent élevé.

Le bilan hépatique et rénal est généralement normal.

2. Les marqueurs diagnostiques spécifiques : les autoanticorps

2.1. Les marqueurs du diagnostic positif Les facteurs rhumatoïdes (2, 3)

La recherche des FR a tout son intérêt lorsque l'examen clinique et les données radiologiques rendent le diagnostic de PR probable, mais si elle est

faite dans le cadre d'un syndrome inflammatoire inexpliqué ou d'arthralgies simples, l'interprétation devient délicate compte tenu du nombre important de situations où l'on peut trouver des FR. Ils perdent alors toute leur valeur diagnostique (tableau 2).

L'incidence des FR dans la PR dépend de la technique utilisée pour leur détection : pour une spécificité de près de 90 % l'ELISA est plus sensible (80-85 %) que les tests d'agglutination (60-75 %) et la néphélométrie/turbidimétrie (75-80 %). En routine, les tests d'agglutination sont de moins en moins utilisés au profit de l'ELISA demandé de plus en plus par les rhumatologues.

L'ELISA permet de préciser l'isotype des FR (les FR d'isotype IgM sont recherchés en routine, parfois avec les FR d'isotype IgA) et de détecter les facteurs rhumatoïdes cachés c'est-à-dire ceux complexés aux IgG.

Comme l'agglutination, l'ELISA permet aussi de détecter les FR dirigés contre des IgG animales (FR hétérologues) ou humaines (FR homologues). Dans une étude strasbourgeoise portant sur 1 647 sérums, il apparaît clairement que la recherche par ELISA des FR hétérologues n'est d'aucun intérêt en routine puisqu'on ne les trouve de façon isolée (sans FR homologues) que dans des affections autres que la PR (tableau 3).

Il n'est pas possible de déterminer un seuil au-delà duquel le diagnostic de PR est certain. Cependant dans la plupart des maladies non rhumatismales, les titres de FR sont plus faibles que dans la PR, un titre de FR supérieur à 50 UI/ml est plus spécifique de la PR.

Les anticorps anti-peptides ou protéines citrullinés (4-22)

Pour la détection des APPC, la sensibilité de l'ELISA et aussi celle des nouvelles techniques sur automates (UNICAP®, VIDAS®) est nettement supérieure à celle de l'immunofluorescence indirecte (IFI) sur frottis de muqueuse buccale (facteurs ou Ac antipériducléaires) ou coupes d'œsophage de rat (Ac anti- « kératine », Ac anti-filagrine/anti-stratum corneum). De ce fait l'IFI (dont la sensibilité pour la PR varie entre 35 à 59 %) est remplacée à l'heure actuelle par d'autres techniques, surtout l'ELISA, pour la recherche des APPC. La recherche des Ac anti-CCP figure à la nomenclature des actes de biologie médicale depuis le 25 novembre 2008.

La sensibilité et la spécificité des tests utilisés pour détecter les APPC dépendent non seulement des antigènes citrullinés utilisés (peptides cycliques citrullinés CCP2 ou CCP3, vimentine citrullinée mutée – MCV : Mutated Citrullinated Vimentin-, filagrine recombinante citrullinée pour les kits commerciaux) mais aussi du stade d'évolution de la PR (tableau 4).

Les APPC ont une spécificité comparable à celle des FR lorsque le seuil de positivité est fixé à 50 UI/ml, et lorsque les FR sont absents les APPC sont présents dans deux cas sur trois.

Des APPC peuvent être présents dans d'autres affections, généralement auto-immunes (lupus systémique, syndrome de Gougerot-Sjögren, sclérodémie systémique, hépatopathies auto-immunes). Le suivi de ces patients permettra de préciser la signification clinique des APPC qui sont peut être les marqueurs d'une PR qui ne se révélera que quelques années plus tard. Les APPC peuvent être présents jusqu'à 14 ans avant les premiers signes articulaires, et plus on se rapproche du début clinique de la maladie, plus la prévalence des APPC est importante : 41 % des patients ont des APPC le jour du diagnostic clinique. Ainsi dans les rhumatismes inflammatoires chroniques inclassés évoluant depuis plus de 3 mois, la présence d'APPC a une forte valeur prédictive positive de survenue d'une PR (près de 90 %).

Les études prospectives montrent que les APPC ont une valeur diagnostique supérieure aux FR et que la positivité conjointe des FR et des APPC offre la meilleure performance pour le diagnostic de la PR. La recherche combinée des FR (au mieux d'isotype IgM et homologues) et des APPC (anti-CCP2) permet en effet d'avoir une sensibilité de 60 % pour le diagnostic des PR précoces et de 80 % pour les PR de plus de 2 ans d'évolution.

2.2. Les marqueurs du diagnostic différentiel

Dans un contexte de rhumatisme inflammatoire, en particulier débutant, il faut discuter la possibilité d'une connectivite (en particulier d'un lupus systémique, d'un syndrome de Gougerot-Sjögren primaire ou secondaire), d'une vascularite ou plus rarement d'une maladie auto-immune spécifique d'organe (hépatite, maladie cœliaque...).

Permettront d'orienter le diagnostic :

- une recherche d'Ac antinucléaires, d'Ac anti-ENA (Extractable Nuclear Antigens), d'Ac anti-ADN double brin, d'ANCA (Ac anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles) et éventuellement d'autres autoanticorps (Ac anti-foie, Ac anti-endomysium et anti-transglutaminase tissulaire) ;
- un bilan hépatique (dosage de l'activité des aminotransférases ALAT et ASAT, de la phosphatase alcaline et des gamma-GT) ;

- un bilan rénal : dosage de la créatininémie (avec évaluation de la clairance en particulier chez le sujet âgé), recherche d'une protéinurie et dosage, sédiment urinaire ;
- un bilan musculaire : dosage des créatine-phosphokinases (CPK) ;
- une numération formule sanguine.

II. La biologie, une aide au pronostic de la PR

Lors du diagnostic, certains paramètres biologiques constituent de véritables facteurs prédictifs de sévérité de la maladie.

1. Les facteurs rhumatoïdes et les APPC (2, 4, 24-28)

- Les malades aux titres élevés de FR (FR d'isotype IgM > 500 UI/ml en ELISA) ont généralement une PR d'évolution plus sévère marquée par l'apparition de nodules sous-cutanés, d'érosions osseuses et d'une plus grande fréquence de manifestations extra-articulaires, en particulier de vascularite.
- La présence de FR d'isotype IgA au moment du diagnostic est corrélée de façon significative à une PR plus agressive, à l'existence d'érosions osseuses et d'atteinte extra-articulaire et, lorsque les titres sont élevés, à une vascularite.
- La présence des APPC est corrélée à certains paramètres de sévérité de la PR (raideur matinale, érosions osseuses, déformations articulaires, présence de nodules sous-cutanés) et aux paramètres de l'inflammation. Chez les patients ayant une PR de découverte récente la présence d'APPC constitue un facteur de risque de survenue d'une PR érosive.
- La présence concomitante de FR et d'APPC est prédictive d'une progression rapide de la PR (76 % des patients) et de l'apparition d'érosions osseuses (83 % des patients).

2. Le syndrome inflammatoire (29-31)

Un syndrome inflammatoire biologique important avec VS (et CRP) très augmentées constitue un signe d'activité de la maladie or l'activité est un facteur de sévérité de la PR. Lorsque les augmentations de la VS et de la CRP sont discordantes, les causes interférentes dans la mesure de la VS doivent être recherchées : la VS peut être faussement augmentée en cas d'hypergammaglobulinémie, macrocytose, anémie, hémodilution, ou faussement basse en cas de microcytose, sphérocytose, hémococoncentration, hypofibrinogénémie ou cryoglobulinémie.

III. La biologie, une aide au suivi de la PR (2, 4, 7, 29-32)

Le suivi d'un patient atteint de PR a pour objectif d'évaluer l'activité de la maladie, la réponse et la tolérance au traitement. L'activité de la maladie est généralement appréciée par le DAS ou Disease Activity Score établi par l'EULAR (European Ligue Against Rheumatism). Ce score tient compte de l'appréciation globale de la maladie sur une échelle visuelle analogique effectuée par le patient, du nombre de synovites et d'articulations douloureuses à la palpation (lorsque l'analyse se fait sur 28 articulations on parle de DAS 28, le DAS initial portant sur 44 articulations) et le résultat de la vitesse de sédimentation. La PR est inactive quand le DAS 28 est inférieur ou égal à 3,2, une PR active est définie par un DAS 28 > 5,1, une PR modérément active est définie

par un score intermédiaire. Il existe un DAS 28 tenant compte de la CRP et non de la VS mais son utilisation est moindre en pratique rhumatologique bien qu'il soit bien corrélé au DAS 28 tenant compte de la VS.

La biologie constitue une aide importante dans le suivi de la PR.

1. Les paramètres de l'inflammation (VS et CRP)

VS et CRP vont permettre de calculer le DAS et ainsi d'adapter le traitement en fonction de l'activité de la PR. L'exploration de ces paramètres fait partie de l'évaluation initiale de la PR, puis se fait une fois par mois jusqu'au contrôle de la PR, puis tous les trois mois.

2. Les contrôles biologiques

Des contrôles biologiques réguliers sont nécessaires pour la surveillance du traitement (surveillance hématologique, hépatique et/ou rénale).

Tableau 1 : Critères de classification proposés par l'ARC en 1987

<p>1. Raideur matinale Raideur articulaire ou périarticulaire durant au moins une heure</p>
<p>2. Arthrites d'au moins trois articulations Gonflement simultané d'au moins trois articulations constaté par un médecin et dû à une hypertrophie des tissus mous ou à un épanchement articulaire (et non à une seule saillie osseuse). Quatorze articulations ou groupes d'articulations sont à prendre en compte : IPP (interphalangiennes proximales), MCP (métacarpophalangiennes), poignets, coudes, genoux, chevilles, MTP (métatarsophalangiennes).</p>
<p>3. Arthrites touchant la main Gonflement d'au moins un des groupes articulaires suivants : poignet, MCP, IPP.</p>
<p>4. Arthrites symétriques Atteinte simultanée et bilatérale des articulations ou groupes d'articulations définis en 2. L'atteinte bilatérale des IPP, MCP, MTP est acceptable même en l'absence de symétrie parfaite.</p>
<p>5. Nodules rhumatoïdes Nodosités sous-cutanées constatées par un médecin sur des crêtes osseuses ou des surfaces d'extension ou en situation péri-articulaire.</p>
<p>6. Présence de facteur rhumatoïde</p>
<p>7. Signes radiologiques Anomalies radiologiques typiques de PR sur des clichés des mains et des poignets avec érosions osseuses et déminéralisation en bande.</p>

4 critères sont nécessaires pour affirmer le diagnostic

3. Les autoanticorps

- La recherche des FR n'est d'aucune utilité au cours du suivi de la PR :
 - la variation des titres de FR n'est pas corrélée à l'activité de la maladie ;
 - elle ne constitue pas un marqueur de réponse thérapeutique, n'apportant pas de renseignements concernant l'efficacité du traitement.
- L'intérêt des APPC dans le suivi de la PR est sujet à controverses. Si la plupart des études n'en font pas un marqueur d'évolutivité de la maladie, il semblerait néanmoins que l'augmentation de leur titre soit associée à l'activité d'une PR souvent sévère. Des diminutions significatives de leur titre ont également été notées lors d'une diminution de l'activité de la PR.

Conclusion

La biologie est d'une aide incontestable au diagnostic, au pronostic et au suivi de la PR. Si les FR constituent à l'heure actuelle le seul critère biologique retenu par l'ACR pour le diagnostic de cette affection, leur spécificité est aujourd'hui largement dépassée par celle des APPC. L'exploration biologique de la PR doit inclure ces nouveaux marqueurs à la fois diagnostiques et pronostiques même s'ils ne sont pas encore inscrits à la nomenclature des actes de biologie médicale.

Tableau 2 : Situations autres que la PR où l'on peut observer de FR

Situations	Fréquence
Sujets sains	<ul style="list-style-type: none"> • 25 % des sujets de plus de 75 ans
Syndromes lymphoprolifératifs	<ul style="list-style-type: none"> • 25 % des maladies de Waldenström et des leucémies lymphoïdes chroniques • Rare dans les lymphomes et les myélomes
Infections virales	<ul style="list-style-type: none"> • 75 % des hépatites C, si cryoglobulinémie de type II : 30-70 % • Mononucléose infectieuse...
Infections bactériennes	<ul style="list-style-type: none"> • Tuberculose, brucellose, syphilis, lèpre, salmonellose • Endocardite : 10-30 %
Infections parasitaires	<ul style="list-style-type: none"> • 30 % dans les parasitoses chroniques : trypanosomiase, paludisme, kala-azar, filariose, leishmaniose
Maladies auto-immunes	<ul style="list-style-type: none"> • 50-7 % des syndromes de Gougerot-Sjögren • 30-40 % des lupus systémiques • 20 % des sclérodermies systémiques • 5 % des arthrites chroniques juvéniles • Rares dans les hépatites auto-immunes

Tableau 3 : Valeur diagnostique des FR IgM homologues et hétérologues

(1 647 sérums testés en routines par ELISA maison pour les FR IgM) (d'après 3)

156 sérums ⊕ / 1647	FR IgM homologues ⊕ + FR IgM hétérologues ⊕ (n = 118)	FR IgM homologues ⊕ + FR IgM hétérologues ⊖ (n = 25)	FR Ig homologues ⊖ + FR IgM hétérologues ⊕ (n = 13)
PR	64 % (n = 75)	40 % (n = 10)	0 %
Non PR	36 %	60 % Maladies auto-immunes Rhumatismes inflammatoires	100 % Maladies hématologiques ou infectieuses

Tableau 4 : Sensibilité et spécificité des APPC pour la PR
(exceptés facteurs ou Ac anti- « kératine »/filagrine/stratum corneum) (d'après 4,16-18, 20, 21)

APPC	PR récente		PR établie	
	Sensibilité	Spécificité	Sensibilité	Spécificité
Anti-peptides citrullinés :				
• Anti-CCP1	0,41 - 0,48	0,91 - 0,96	0,41 - 0,68	0,96 - 0,98
• Anti-CCP2	0,58	0,94	0,47 - 0,88	0,89 - 0,97
• Anti-CCP3	0,53-0,71	0,92	0,64-0,83	0,94
Anti-protéines citrullinées :				
• Anti-filagrine citrullinée	-	-	0,76	0,95
• Anti-fibrinogène citrulliné	0,56	0,93	-	-
• Anti-vimentine citrullinée mutée	0,57 - 0,62	96,5	0,57 - 0,74	96,5

Bibliographie

- Bardin T, Bouchaud-Chabot A.** Manifestations systémiques de la polyarthrite rhumatoïde. In : Kahn MF, Peltier AP, Meyer O, Piette JC. Maladies et syndromes systémiques. Paris : Flammarion ; 2000. p. 397-432.
- Charrin JE, Goetz J, Sibilia J.** Caractéristiques et signification clinique des facteurs rhumatoïdes. *Technique et biologie.* 1997 ; 3 : 88694.
- Renaud AS.** Facteurs rhumatoïdes IgM homologues et hétérologues par technique ELISA : valeur diagnostique des réactions dissociées. Thèse Méd. Strasbourg, 1993 : 49.
- Fabien N, Goetz J, Sordet C, Humbel RL, Sibilia J pour le GEAI (Groupe d'Etude de l'Auto-Immunité).** Les nouveaux autoanticorps de la polyarthrite rhumatoïde : les autoanticorps anti-protéines citrullinées... et les autres. *Presse Méd.* In press 2007.
- Vincent C, Nogueira L, Clavel C, Sebbag M, Serre G.** Autoantibodies to citrullinated proteins : ACPA. *Autoimmunity.* 2005 ; 38 : 17-24.
- Herold M, Boeser V, Russe E, Klotz W.** Anti-CCP : history and its usefulness. *Clin Dev Immunol.* 2005 ; 12 : 131-5.
- Zendman AJ, Vossenaar ER, van Venrooij WJ.** Autoantibodies to citrullinated (poly) peptides : a key diagnostic and prognostic marker for rheumatoid arthritis. *Autoimmunity.* 2004 ; 37 : 295-9.
- Sauerland U, Becker H, Seidel M, Schotte H, Willeke P, Schorat A, et al.** Clinical utility of the anti-CCP assay : experiences with 700 patients. *Ann N Y Acad Sci.* 2005 ; 1050:314-8.
- Vander Cruyssen B, Nogueira L, Van Praet J, Deforce D, Elewaut D, Serre G, et al.** Do all anti-citrullinated protein/peptide antibody (ACPA) tests measure the same? Evaluation of discrepancy between ACPA tests in RA and non-RA patients. *Ann Rheum Dis.* 2007 Jul 20.
- De Rycke L, Peene I, Hoffman IE, Kruihof E, Union A, Meheus L, et al.** Rheumatoid factor and anticitrullinated protein antibodies in rheumatoid arthritis : diagnostic value, associations with radiological progression rate, and extra-articular manifestations. *Ann Rheum Dis.* 2004 ; 63 : 1587-93.
- Garcia-Berrocal B, Gonzalez C, Perez M, Navajo JA, Moreta I, Davila C, et al.** Anti-cyclic citrullinated peptide autoantibodies in IgM rheumatoid factor-positive patients. *Clin Chim Acta.* 2005 ; 354 : 123-30.
- Dubucquoi S, Solau-Gervais E, Lefranc D, Marguerie L, Sibilia J, Goetz J, et al.** Evaluation of anti-citrullinated filaggrin antibodies as hallmarks for the diagnosis of rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis.* 2004 ; 63 : 415-9.
- Coenen D, Verschuere P, Westhovens R, Bossuyt X.** Technical and diagnostic performance of 6 assays for the measurement of citrullinated protein/peptide antibodies in the diagnosis of rheumatoid arthritis. *Clin Chem.* 2007 ; 53 : 498-504.
- Hill JA, Al-Bishri J, Gladman DD, Cairns E, Bell DA.** Serum autoantibodies that bind citrullinated fibrinogen are frequently found in patients with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 2006 ; 33 : 2115-9.
- Dubois-Galopin F, Masson C, Chevailler A.** Evaluation d'une nouvelle technique de dosage par fluo-

rimétrie des autoanticorps anti-peptides cycliques citrullinés pour le diagnostic de polyarthrite rhumatoïde. *Ann Biol Clin.* 2006 ; 64 : 162-5.

16. *Dubucquoi S.* Diagnostic biologique de la polyarthrite rhumatoïde : anticorps anti-protéines et peptides citrullinés : la saga continue. *Rev Fr Lab.* 2006 ; 384 (Suppl) : 47-50.

17. *Soos L, Szekanecz Z, Szabo Z, Fekete A, Zeher M, Horvath IF, et al.* Clinical evaluation of anti-mutated citrullinated vimentin by ELISA in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 2007 ; 34 : 1658-63.

18. *Nicoloudi A, Renaudineau Y, Devauchelle V, Saraux A, Youinou P.* Apport des nouveaux examens biologiques au diagnostic de la polyarthrite rhumatoïde. *Immunoanal Biol Spec.* 2007 ; 22 : 167-72.

19. *Gottenberg JE, Mignot S, Nicaise-Rolland P, Cohen-Solal J, Aucouturier F, Goetz J, et al.* Prevalence of anti-cyclic citrullinated peptide and anti-keratin antibodies in patients with primary Sjogren's syndrome. *Ann Rheum Dis.* 2005;64:114-7.

20. *Wu R, Shovman O, Zhang Y, Gilburd B, Zandman-Goddard G, Shoenfeld Y.* Increased prevalence of anti-third generation cyclic citrullinated peptide antibodies in patients with rheumatoid arthritis and CREST syndrome. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2007;32:47-56.

21. *Santiago M, Baron M, Miyachi K, Fritzler MJ, Abu-Hakima M, Leclercq S, Bell M et al.* A comparison of the frequency of antibodies to cyclic citrullinated peptides using a third generation anti-CCP assay (CCP3) in systemic sclerosis, primary biliary cirrhosis and rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol.* 2008;27:77-83.

22. *Nielen MMJ, van Schaardenburg D, Reesink HW, van de Stadt RJ, van der Horst-Bruinsma IE, de Koning MHMT, et al.* Specific autoantibodies precede the symptoms of rheumatoid arthritis: a study of serial measurements in blood donors. *Arthritis Rheum.* 2004;50:380-6.

23. *Van Gaalen FA, Linn-Rasker SP, van Venrooij WJ, de Jong BA, Breedveld FC, Verweij CL, et al.* Autoantibodies to cyclic citrullinated peptides predict progression to rheumatoid arthritis in patients with undifferentiated arthritis: a prospective cohort study. *Arthritis Rheum.* 2004;50:709-15.

24. *Nielen MM, van Schaardenburg D, Reesink HW, Twisk JW, van de Stadt RJ, van der Horst-Bruinsma IE, et al.* Simultaneous development of acute phase response and autoantibodies in preclinical rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2006;65:535-7.

25. *Vencovsky J, Machacek S, Sedova L, Kafkova J, Gatterova J, Pesakova V, et al.* Autoantibodies can be

prognostic markers of an erosive disease in early rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2003;62:427-30.

26. *Kastbom A, Strandberg G, Lindroos A, Skogh T.* Anti-CCP antibody test predicts the disease course during 3 years in early rheumatoid arthritis (the Swedish TIRA project). *Ann Rheum Dis.* 2004;63:1085-9.

27. *Raza K, Breese M, Nightingale P, Kumar K, Potter T, Carruthers DM, et al.* Predictive value of antibodies to cyclic citrullinated peptide in patients with very early inflammatory arthritis. *J Rheumatol.* 2005;32:231-8.

28. *Del Val del Amo N, Ibanez Bosch R, Fito Manteca C, Gutierrez Polo R, Loza Cortina E.* Anticyclic citrullinated peptide antibody in rheumatoid arthritis: relation with disease aggressiveness. *Clin Exp Rheumatol.* 2006;24:281-6.

29. *Villarverde V, Balsa A, Cantalejo M, Fernandez-Prada M, Madero MR, Munoz-Fernandez S, et al.* Activity indices in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol.* 2000;27:2576-81.

30. *Smolen JS, Breedveld FC, Schiff MH, Kalden JR, Emery P, Eberl G, et al.* A simplified disease activity index for rheumatoid arthritis for use in clinical practice. *Rheumatology.* 2003;42:244-57.

31. *Soubrier M, Zerkak D, Gossec L, Ayrat X, Roux C, Dougados M.* Which variables best predict change in rheumatoid arthritis therapy in daily clinical practice? *J Rheumatol.* 2006;33:1243-6.

32. *Meyer O, Nicaise-Roland P, dos Santos M, Labarre C, Dougados M, Goupille P, et al.* Serial determination of cyclic citrullinated peptide autoantibodies predicted five-year radiological outcomes in a prospective cohort of patients with early rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2006;8:R40.



Les anticorps anti-protéines/peptides citrullinés remplaceront-ils les facteurs rhumatoïdes dans les critères diagnostiques de la polyarthrite rhumatoïde ?

Farid BENKHADRA & René-Louis HUMBEL

Laboratoire Luxembourgeois d'Immunopathologie - L-4149 Esch-sur-Alzette - Luxembourg

Faut-il réviser à nouveau les critères de diagnostic de la polyarthrite rhumatoïde de l'American College of Rheumatology ?

En 1987, l'American College of Rheumatology (ACR) a révisé ses critères diagnostiques de la polyarthrite rhumatoïde (PR) [1]. Sept critères, cliniques, radiologiques et biologiques, ont été retenus :

- une raideur matinale pendant au moins six semaines avec un dérouillage articulaire ou péri-articulaire d'au moins une heure ;
- une polyarthrite touchant au moins trois articulations pendant au moins six semaines, se manifestant par un gonflement simultané d'au moins trois articulations par hypertrophie des tissus mous ou par épanchement (et non par hypertrophie osseuse). Les 14 sites articulaires possibles sont les interphalangiennes proximales (IPP), les métacarpophalangiennes (MCP), les métatarsophalangiennes (MTP), les poignets, les coudes, les genoux et les chevilles. Les interphalangiennes distales ne sont pas touchées ;
- une arthrite touchant la main pendant au moins six semaines se manifestant par un gonflement d'au moins une articulation parmi les poignets, les MCP et les IPP ;
- une arthrite symétrique pendant au moins six semaines se manifestant par une atteinte bilatérale simultanée des articulations. L'atteinte bilatérale des IPP, MCP, MTP est acceptable, même en l'absence de symétrie parfaite ;
- des nodules rhumatoïdes. Ce sont des nodules sous-cutanés se localisant sur les crêtes osseuses, les faces d'extension, ou en péri-articulaire ;
- la présence dans le sérum de facteurs rhumatoïdes (FR) à titre élevé, détectés par toute technique donnant un résultat positif chez moins de 5 % de la population normale ;
- des lésions radiologiques, les lésions typiques de la PR sur des radios de mains et de poignets se mani-

festant par des érosions osseuses et une déminéralisation en bande.

Cette classification a d'emblée soulevé un vent de mécontentement, ces critères ne semblant pas suffisamment performants pour le diagnostic d'une PR débutante [2, 3]. Parmi les limites de ces critères, il y a les biais introduits par la sélection initiale des populations malade et témoin, les dérives dans l'utilisation courante de ces critères mais également les évolutions majeures observées dans les domaines de la biologie, de l'imagerie et de la pharmacologie avec notamment l'arrivée des biothérapies (anti-TNF α).

Révision motivée par les biais de sélection initiale des populations

Dans l'étude princeps, les patients ayant une poussée d'arthrite inflammatoire d'origine indéterminée n'ont pas été inclus. En effet, seuls ont été inclus :

- dans le groupe des malades, les PR connues depuis en moyenne sept ans ;
- dans le groupe témoin, les patients ayant une pathologie connue (lupus, fibromyalgie, ostéoarthritis).

Révision motivée par les biais d'inclusion de ces critères

La plupart des critères de l'ACR ont été choisis de façon subjective, leur inclusion reposant avant tout sur une conviction médicale.

De plus, la notion même de PR débutante a été longtemps contestée, le patient ayant soit une arthrite inflammatoire d'étiologie indéterminée soit une PR confirmée [4].

Révision motivée par les modes d'utilisation de ces critères

Les critères de l'ACR de 1987 peuvent être utilisés de deux manières. La première, la plus usitée, consiste à rechercher la présence pendant une durée de six

semaines de quatre des sept critères. La seconde, moins connue, repose sur un arbre décisionnel où il est possible de substituer certains critères par d'autres [5]. Or, bien que cette seconde méthode se soit avérée au moins aussi performante pour le diagnostic positif de PR, elle reste peu utilisée dans les études scientifiques.

La plupart des études cliniques utilise les critères de l'ACR pour inclure dans le groupe des PR les patients souffrant de poussées rhumatismales aiguës. Aussi, dispose-t-on de très peu de preuves médicales quant à la prise en charge thérapeutique des patients ayant des manifestations rhumatismales précoces et qui ne répondent pas aux critères de l'ACR.

Révision des critères motivée par l'évolution des technologies de l'imagerie

Rappelons que lorsque les critères de l'ACR ont été établis, l'imagerie médicale ne disposait pas d'outils suffisamment performants en termes de résolution et de sensibilité pour pouvoir mettre en évidence des modifications précoces des structures osseuses et cartilagineuses. Ces images sont aujourd'hui observables avant même l'apparition des signes d'érosion en radiologie conventionnelle.

Actuellement, l'objectif des cliniciens est de mettre en route une thérapeutique précoce afin d'éviter les lésions érosives destructrices [6, 7]. Les développements technologiques de l'imagerie permettant d'observer des modifications a minima du cartilage et de l'os sous-chondral par résonance magnétique ou échographie articulaire à haute fréquence ont sans aucun doute une place plus pertinente que certains des critères de l'ACR, sur une population bien ciblée [8-10].

Révision des critères motivée par l'apparition de nouveaux marqueurs biologiques

La présence de FR à un titre significatif (> 50 UI/L) est un marqueur prédictif de persistance de la maladie ainsi qu'un marqueur de sévérité [11, 12]. Cependant, ce marqueur pêche par son manque de spécificité (présence lors de lupus, de maladie de Sjögren, d'ostéomyélite chronique ainsi qu'à des titres faibles dans 10 % de la population générale). La présence de FR est également importante car c'est un marqueur prédictif de survenue de manifestations extra-articulaires. Ce marqueur reste d'une grande pertinence pour le diagnostic précoce notamment des formes graves de PR.

Mais, compte tenu du manque de spécificité des FR, la découverte des autoanticorps anti-protéines/peptides citrullinés et leurs implications dans le processus physiopathologique de la PR ont

soulevé des questions quant à leur indication comme marqueurs supplémentaires dans le diagnostic d'une PR. Ce marqueur est d'une très grande spécificité (> 90 %) et est retrouvé également dans les formes graves de la PR, indépendamment de la présence de FR [13].

En définitive, les critères de l'ACR sont pertinents pour classer les malades mais sont inadaptés pour porter un diagnostic précoce de PR. Ces critères ont fait l'objet d'une révision par le groupe néerlandais de Leiden [14]. De nouveaux critères ont été établis en 2002 à partir d'une étude prospective de deux ans portant sur une population de 524 personnes présentant des signes précoces d'inflammation articulaire. Après traitement statistique des données par régression logistique, cinq des critères de l'ACR ont été retenus. En revanche, l'arthrite des mains et les nodules rhumatoïdes ont été substitués par les douleurs bilatérales des MTP et la présence d'anticorps anti-CCP. Ces critères semblent ainsi plus pertinents pour poser le diagnostic précoce de PR.

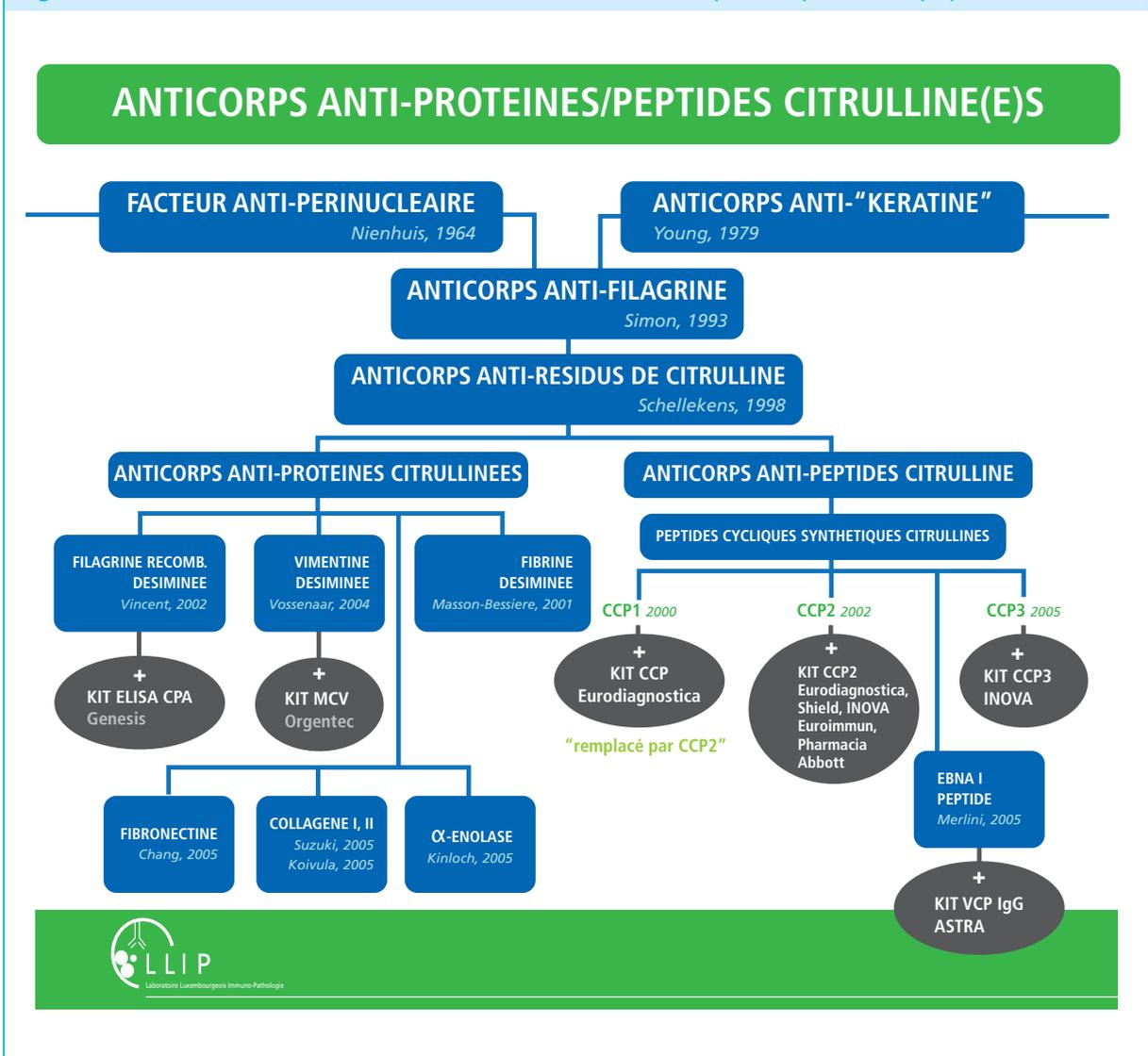
A propos des anticorps anti-CCP et de leur utilité dans le diagnostic de la PR

L'histoire des anticorps anti-protéines/peptides citrullinés commence en 1964 quand un groupe de chercheurs hollandais, l'équipe de Nienhuis, met en évidence dans le sérum de malades atteints de polyarthrite rhumatoïde (PR) des anticorps marquant en immunofluorescence indirecte les grains de kératohyaline du cytoplasme des cellules épithéliales de la muqueuse buccale humaine [15]. Ces anticorps ont été appelés « facteur antipérinucléaire ». En 1979, l'équipe de Young de Londres décrit des anticorps qui se fixent sur la couche cornée de l'épithélium malpighien de l'œsophage de rat [16]. En raison de cette localisation histologique, ces anticorps ont été dénommés « anticorps anti-kératine ». En 1996, c'est un groupe de chercheurs français, avec Guy Serre de Toulouse, qui identifie l'antigène cible de ces anticorps, qui s'avère être la filagrine et non la kératine [17]. Cette protéine permet l'agrégation des filaments de cytokératine. Cette importante découverte a incité les chercheurs à utiliser la filagrine purifiée à partir d'extraits d'épiderme humain ou d'œsophage de rat pour rechercher les anticorps correspondants. Les résultats furent décevants puisque la sensibilité des tests était très faible et très variable. En 1998, l'équipe de Schellekens montre que les déterminants antigéniques présents sur la filagrine et reconnus par les anticorps sont constitués en grande partie de résidus de citrulline [18].

La citrulline est un acide aminé qui n'est pas encodé par l'ADN. Elle est formée secondairement à la transformation post-traductionnelle de l'arginine. Cette transformation est une étape de désimination placée sous l'action d'une enzyme, la peptidylarginine désiminase (PAD). Il existe diverses isoformes de PAD, dont la PAD2 et la PAD4 qui sont contenues dans les leucocytes. L'activité de la PAD est fortement dépendante des ions Ca⁺. La concentration intracellulaire de Ca⁺ est trop faible pour soutenir l'activité enzymatique. En revanche, dès que l'intégrité des cellules est altérée (inflammation, nécrose), un afflux important de calcium à l'intérieur de la cellule entraîne une activation de la PAD et en conséquence une accentuation de la « citrullination » de certaines protéines. Cette modification entraîne une augmentation de l'hydrophobicité et un désenroulement de la protéine citrulinée en modifiant les charges. En effet, alors que l'arginine est chargée positivement, la citrulline est neutre. Par ailleurs, de

nombreuses protéines de l'organisme subissent la citrullination dont la filagrine, la protéine basique de la myéline, la vimentine et le fibrinogène. Parmi celles-ci, seuls la vimentine et le fibrinogène se trouvent dans la synoviale enflammée. La réaction avec la filagrine relève donc d'une réaction croisée avec des épitopes citrulinés communs à ces protéines. Plus récemment, on a également montré que le collagène, la fibronectine et l' α -énolase, une fois citrulinés, pouvaient réagir avec les anticorps du sérum des malades atteints d'une PR. La citrullination des protéines au niveau de la synoviale est un phénomène survenant au cours de l'inflammation. En revanche, la production des anticorps contre les protéines citrulinées est tout à fait spécifique de la PR. Il semble également exister un lien entre la production des anticorps et les allèles HLA associés à un risque élevé de PR (épitopes partagés des haplotypes HLA-DRI et DR4) [19-21].

Figure 1 : évolution des méthodes de détection des anticorps anti-protéines/peptides citrulinés

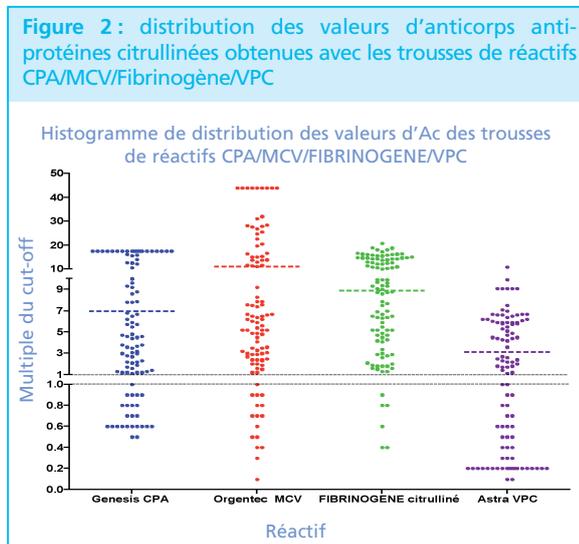


Anticorps anti-protéines citrullinées

Différentes protéines citrullinées sont utilisées pour la recherche de ces anticorps (fig. 1). La filagrine recombinée de rat, citrullinée in vitro, est utilisée dans un test ELISA commercialisé par la société GENESIS sous le nom de CPA [22]. La firme allemande ORGENTEC utilise de son côté une forme mutante de la vimentine, qui, une fois citrullinée, réagit de façon spécifique avec les anticorps des sérums atteints de PR (test MCV) [23]. Une autre protéine citrullinée, particulièrement intéressante puisqu'elle est présente dans la synoviale rhumatoïde, est la fibrine. Les chaînes α et β de la fibrine sont porteuses d'épitopes citrullinés analogues à ceux portés par la filagrine. Un test ELISA utilisant le fibrinogène humain citrulliné a été mis au point par l'équipe de Guy Serre à Toulouse [24]. Par ailleurs, des chercheurs italiens ont pu montrer que l'une des protéines du virus d'Epstein-Barr, l'EBNA 1, contient dans sa région N-terminale une séquence d'acides aminés riche en arginine. Cette séquence a été synthétisée en substituant les résidus d'arginine par la citrulline. Le nouveau peptide est utilisé dans le test ELISA VPC récemment commercialisé par la firme italienne ASTRA [25].

Il n'existe pas à ce jour de réactifs commerciaux utilisant le collagène [26, 27], la fibronectine [28] ou l' α -énolase [29] citrullinés.

L'étude réalisée dans notre laboratoire [30] sur une population de 102 patients atteints de PR a mis en évidence une différence importante de sensibilité en fonction des substrats antigéniques citrullinés (fig. 2). Ces différences sont à mettre sur le compte de la nature et la composition des substrats antigéniques utilisés, et en particulier sur le nombre de résidus citrullinés et leur localisation dans l'environnement de la chaîne peptidique.



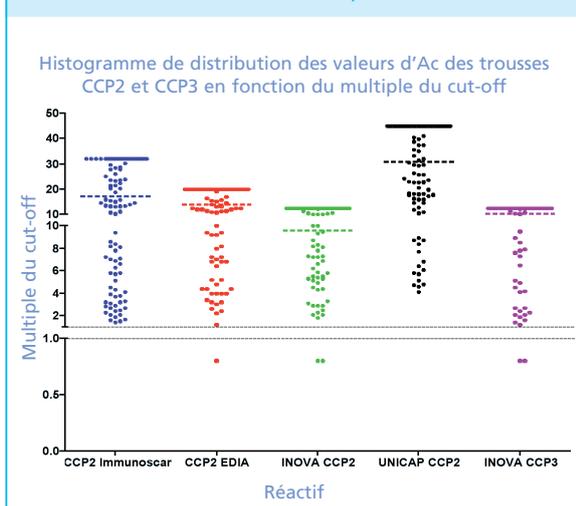
Anticorps anti-peptides synthétiques citrullinés

A partir des informations livrées par la structure antigénique de la filagrine humaine, des peptides ont été synthétisés, citrullinés, puis cyclisés, et ont été sélectionnés en raison de leur réactivité élevée avec les anticorps des malades atteints de PR (CCP1) [31]. Dans un second temps, de nouveaux peptides qui n'ont plus aucune homologie avec la filagrine ou d'autres protéines connues ont été préparés (CCP2 et CCP3). Ils ont été sélectionnés à partir d'une librairie de peptides, par leur forte réactivité avec le sérum de patients avec PR. La plupart des trousse de réactifs actuellement commercialisées pour la recherche des anticorps anti-CCP utilise exactement le même substrat peptidique CCP2 (fig. 1).

Nous avons effectué une étude comparative de quatre trousse de réactifs qui utilisent le même peptide citrulliné CCP2 et d'une trousse détectant le peptide CCP3 sur une cohorte de 102 patients atteints d'une PR [30]. Nous avons noté une bonne concordance des résultats qualitatifs entre les trousse. En revanche, la distribution des valeurs par rapport au cut-off analytique propre à chaque trousse est très variable (fig. 3).

On constate que la trousse UniCAP® permet une meilleure discrimination, la valeur la plus basse observée étant située à plus de 4 fois le cut-off, contre deux fois pour les autres trousse [30] (fig. 3).

Figure 3 : distribution des résultats obtenus avec cinq trousse de détection des anticorps anti-CCP2 ou CCP3



Dans une étude plus récente de 2007 (non encore publiée) portant sur 317 patients ayant une PR, nous avons recherché les Ac anti-CCP2 chez 193 patients connus pour avoir des Ac anti-CCP3 par la trousse INOVA et les Ac anti-CCP3 chez 124 patients connus pour avoir des Ac anti-CCP2 par la trousse INOVA.

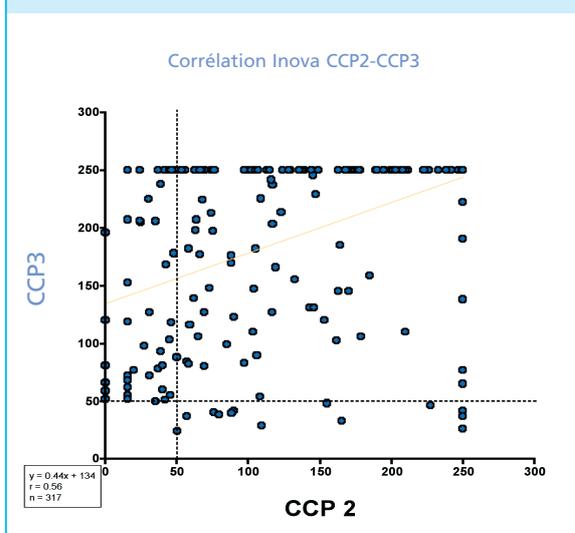
On retrouve des valeurs similaires de CCP2 et de CCP3 chez 143 patients (45,1 %), des valeurs significativement supérieures de CCP3 versus CCP2 chez

144 patients (45,4 %) contre des valeurs significativement supérieures de CCP2 versus CCP3 chez 30 patients (9,5 %). Par ailleurs, on observe 41 faux négatifs en CCP2 versus 11 faux négatifs en CCP3, ce qui, rapporté au prorata de la distribution initiale des patients en fonction de leur statut vis à vis des CCP, correspond à une sensibilité de 79 % pour la trousse INOVA CCP2 contre 92 % pour la trousse INOVA CCP3 (fig. 4).

Par ailleurs, il semble difficile, à l'heure actuelle, de comparer les valeurs quantitatives des différentes trouses d'anticorps anti-épitopes citrullinés compte tenu de l'hétérogénéité du substrat antigénique, de l'environnement analytique et de l'absence d'étalon international.

Cette restriction peut être un frein aussi bien pour la recherche d'une valeur seuil pronostique que pour la recherche d'une variation significative de cinétique des valeurs des anticorps pouvant s'inscrire dans le cadre d'une décision d'instauration ou de suivi thérapeutique.

Figure 4 : corrélation entre les résultats fournis par les trouses INOVA CCP2 et INOVA CCP3



Anticorps anti-protéines/peptides citrullinés dans la PR

Les anticorps anti-substrats citrullinés constituent à ce jour les marqueurs les plus spécifiques de la PR puisqu'on ne les retrouve que rarement au cours des autres maladies rhumatismales. Ces anticorps se sont révélés être des marqueurs précoces de la PR permettant d'identifier la maladie à un stade précoce. D'autre part, la présence de ces anticorps est associée à des formes sévères de la PR, la fréquence des érosions étant 10 fois plus élevée chez les patients avec des anti-CCP (Norfolk Arthritis Register [32]). La polyarthrite rhumatoïde est le plus fréquent des

rhumatismes inflammatoires chroniques. Elle se caractérise par une inflammation du tissu synovial, pouvant conduire à une destruction irréversible du tissu osseux et cartilagineux des articulations. Il est désormais admis qu'un traitement de fond instauré durant les trois premiers mois de la maladie peut prévenir ou limiter la destruction articulaire caractéristique de cette maladie. On dispose pour cela de nouveaux médicaments, en particulier les biothérapies à base d'inhibiteurs du TNF-alpha qui permettent de réduire l'inflammation et de contrôler l'activité de la maladie. Du fait de leur impact sur le système immunitaire mais aussi à cause de leur coût très élevé, ces médicaments doivent être réservés aux malades qui risquent d'évoluer vers une PR grave. Ces anticorps anti-CCP sont, à cet égard, un outil très précieux car ils caractérisent précisément les PR qui sont susceptibles d'évoluer vers une forme grave de la maladie, avec en particulier, des destructions osseuses [33-37].

La présence des facteurs rhumatoïdes (FR) est indépendante de celle des anticorps anti-CCP. Ces marqueurs doivent donc être associés pour améliorer leurs performances diagnostiques vis-à-vis de la PR. Par ailleurs, les thérapies actuelles ne semblent pas modifier de façon significative les titres des anticorps anti-CCP bien que les résultats des études restent contradictoires à ce jour. En revanche, les FR baissent très rapidement sous traitement efficace permettant un suivi à court terme de l'évolution d'une PR. De plus, les FR sont les seuls marqueurs associés aux manifestations extra-articulaires de la PR. Les FR ont donc encore de beaux jours devant eux...

De plus, en cas de forte présomption de PR chez des patients séronégatifs en IgG anti-CCP2 et en facteurs rhumatoïdes, il semble légitime de rechercher des anticorps contre un autre substrat citrulliné, dans la mesure où celui-ci est reconnu pour sa bonne sensibilité (comme le CCP3, le fibrinogène...), et/ou de rechercher des anticorps d'autre isotype (IgA). D'ailleurs, la société INOVA a développé une trousse de réactifs anti-CCP3 détectant les isotypes IgG et IgA, trousse qui permettrait selon leurs études d'améliorer la sensibilité de 2 %. Nous avons testé au LLIP 120 sérums négatifs en IgG anti-CCP3 par cette nouvelle trousse et nous avons noté un résultat fortement positif (valeur de 150 UI/L pour un cut-off à 50), dont l'isotypie IgA a été confirmée. Cette étude préliminaire plaide donc pour cette légère amélioration de la sensibilité de la trousse INOVA CCP3 détectant les 2 isotypes.

En résumé des deux études effectuées au LLIP sur les trousse anti-CCP...

Ces deux études montrent qu'il semble difficile, à l'heure actuelle, de comparer les valeurs quantitatives des différentes trousse d'anticorps anti-épitopes citrullinés compte tenu de l'hétérogénéité du substrat antigénique, de l'environnement analytique et de l'absence d'étalon international. Cette restriction peut être un frein aussi bien pour la recherche d'une valeur seuil pronostique, que pour celle d'une variation significative de cinétique des valeurs des anticorps pouvant s'inscrire dans le cadre d'une décision d'instauration ou de suivi thérapeutique.

Ces études nous rappellent que, parmi les critères de choix d'une trousse optimale pour la détection d'anticorps anti-peptides ou protéines citrullinés, il est sans doute nécessaire d'avoir de bonnes sensibilité, spécificité, valeur prédictive positive et valeur prédictive négative, mais également d'obtenir une bonne discrimination des valeurs positives et négatives par rapport au cut-off analytique de la trousse. En effet, plus le pouvoir discriminant de cette trousse est important, plus le résultat observé nous permettra de nous conforter dans notre démarche diagnostique ou pronostique.

Enfin, à la lumière de ces données, il faut également rappeler l'importance pour le clinicien de bien connaître la trousse utilisée dans le laboratoire qui effectue cette détection afin de pouvoir interpréter au mieux les résultats.

Bibliographie

1. **Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ, Fries JF, Cooper NS, et al.** The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1988 ; 31 : 315-24.
2. **Harrison BJ, Symmons DP, Barrett EM, Silman AJ.** The performance of the 1987 ARA classification criteria for rheumatoid arthritis in a population based cohort of patients with early inflammatory polyarthritis. *American Rheumatism Association. J Rheumatol.* 1998 ; 25 : 2324-30.
3. **Saraux A, Berthelot JM, Chalès G, Le Henaff C, Thorel JB, Hoang S, et al.** Ability of the American College of Rheumatology 1987 criteria to predict rheumatoid arthritis in patients with early arthritis and classification of these patients two years later. *Arthritis Rheum.* 2001 ; 44 : 2485-91.
4. **Dixon WG, Symmons DPM.** Does early rheumatoid arthritis exist ? *Best Pract Res Clin Rheumatol.* 2005 ; 19:37-53.
5. **Lunt M, Symmons DPM, Silman AJ.** An evaluation of the decision tree format of the American College of Rheumatology 1987 classification criteria for rheumatoid arthritis : performance over five years in a primary care – based prospective study. *Arthritis Rheum.* 2005 ; 52 : 2277-83.
6. **Lard LR, Visser H, Speyer I, vander Horst-Bruisma IE, Zwinderman AH, Breedveld FC, et al.** Early versus delayed treatment in patients with recent-onset rheumatoid arthritis : comparison of two cohorts who received different treatment strategies. *Am J Med.* 2001 ; 111 : 446-51.
7. **Nell VPK, Machold KP, Eberl G, Stamm TA, Uffmann M, Smolen JS.** Benefit of very early referral and very early therapy with disease-modifying anti-rheumatic drugs in patients with early rheumatoid arthritis. *Rheumatology.* 2004 ; 43 : 906-14.
8. **McQueen FM, Stewart N, Crabbe J, Robinson E, Yeoman S, Tan PLJ, et al.** Magnetic resonance imaging of the wrist in early rheumatoid arthritis reveals progression of erosions despite clinical improvement. *Ann Rheum Dis.* 1999 ; 58 : 156-63.
9. **McGonagle D, Conaghan PG, O'Connor P, Gibbon W, Green M, Wakefield R, et al.** The relationship between synovitis and bone changes in early untreated rheumatoid arthritis : a controlled magnetic resonance imaging study. *Arthritis Rheum.* 1999 ; 42 : 1706-11.
10. **Wakefield RJ, Gibbon WW, Conaghan PG, O'Connor P, McGonagle D, Pease C, et al.** The value of sonography in the detection of bone erosions in patients with rheumatoid arthritis : a comparison with conventional radiography. *Arthritis Rheum.* 2000 ; 43 : 2762-70.
11. **Tunn EJ, Bacon PA.** Differentiating persistent from self-limiting symmetrical synovitis in an early arthritis clinic. *Br J Rheumatol.* 1993 ; 32 : 97-103.
12. **Wolfe F, Ross K, Hawley DJ, Roberts FK, Cathey MA.** The prognosis of rheumatoid arthritis and undifferentiated polyarthritis syndrome in the clinic : a study of 1141 patients. *J Rheumatol.* 1993 ; 20 : 2005-9.
13. **Mewar D, Coote A, Moore DJ, Marinou I, Keyworth J, Dickson MC, et al.** Independent associations of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies and rheumatoid factor with radiographic severity of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2006 ; 8R128.
14. **Visser H, le Cessie S, Vos K, Breedveld FC, Hazes JM.** How to diagnose rheumatoid arthritis early : a prediction model for persistent (erosive) arthritis. *Arthritis Rheum.* 2002 ; 46 : 357-65.

15. **Nienhuis RL, Mandema E.** A new serum factor in patients with rheumatoid arthritis : the antiperinuclear factor. *Ann Rheum Dis.* 1964 ; 23 : 302-5.
16. **Young BJJ, Mallya RK, Leslie RDG, Clark CJM, Hamblin TJ.** Anti-keratin antibodies in rheumatoid arthritis. *Br Med J.* 1979 ; 2 : 97-9.
17. **Serre G, Vincent C.** Filaggrin (keratin) autoantibodies. In : Peter JB, Shoenfeld Y, editors. *Autoantibodies.* Amsterdam : Elsevier Science BV ; 1996. p. 271-6.
18. **Schellekens GA, de Jong BA, van den Hoogen FH, van de Putte LB, van Venrooij WJ.** Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *J Clin Invest.* 1998 ; 101 : 273-81
19. **Berglin E, Padyukov L, Sundin U, Hallmans G, Stenlund H, van Venrooij WJ et al.** A combination of autoantibodies to cyclic citrullinated peptide (CCP) and HLA-DRB1 locus antigens is strongly associated with future onset of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2004 ; 6 : R303-8.
20. **Klareskog L, Stolt P, Lundberg K, Källberg H, Bengtsson C, Grunewald J, et al.** A new model for an etiology of rheumatoid arthritis : smoking may trigger HLA-DR (shared-epitope)-restricted immune reactions to autoantigens modified by citrullination. *Arthritis Rheum.* 2006 ; 54 : 38-46.
21. **van der Helm-van Mil AHM, Verpoort KN, Breedveld FC, Huizinga TWJ, Toes REM, de Vries RRP.** The HLA-DRB1 shared epitope alleles are primarily a risk factor for anti-cyclic citrullinated peptide antibodies and are not an independent risk factor for development of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2006 ; 54 : 1117-21.
22. **Vincent C, Nogueira L, Sebbag M, Chapuy-Regaud S, Arnaud M, Letourneur O, et al.** Detection of antibodies to deiminated recombinant rat filaggrin by enzyme-linked immunosorbent assay : a highly effective test for the diagnosis of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2002 ; 46 : 2051-8.
23. **Vossenaar ER, Després N, Lapointe E, van der Heijden A, Lora M, Senshu T, et al.** Rheumatoid arthritis specific anti-Sa antibodies target citrullinated vimentin. *Arthritis Res. Ther.* 2004 ; 6 : R142-50.
24. **Masson-Bessière C, Sebbag M, Girbal-Neuhausser E, Nogueira L, Vincent C, Senshu T, et al.** The major synovial targets of the rheumatoid arthritis-specific antifilaggrin autoantibodies are deiminated forms of the alpha and beta-chains of fibrin. *J Immunol.* 2001 ; 166 : 4177-84.
25. **Merlini G, Anzilotti C, Chimenti D, Tommasi C, Bombardieri S, Migliorini P.** A deiminated viral peptide to detect antibodies in rheumatoid arthritis. *Ann N Y Acad Sci.* 2005 ; 1050:243-9.
26. **Suzuki A, Yamada R, Ohtake-Yamanaka M, Okazaki Y, Sawada T, Yamamoto K.** Anti-citrullinated collagen type I antibody is a target of autoimmunity in rheumatoid arthritis. *Biochem Biophys Res Comm.* 2005 ; 33 : 418-26.
27. **Koivula MK, Aman S, Alasaarela E, Karjalainen A, Hakala M, Risteli J.** Inhibitory characteristics of citrullinated telopeptides of type I and II collagens for autoantibody binding in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology.* 2006 ; 45 : 1364-9.
28. **Chang X, Yamada R, Suzuki A, Kochi Y, Sawada T, Yamamoto K.** Citrullination of fibronectin in rheumatoid arthritis synovial tissue. *Rheumatology.* 2005 ; 44 : 1374-82.
29. **Kinloch A, Tatzer V, Wait R, Peston D, Lundberg K, Donatien P, et al.** Identification of citrullinated α -enolase as a candidate autoantigen in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2005 ; 7 : R1421-9.
30. **Benkhadra F, Hila I, Foerster G, Pierrard V, Humbel RL.** Etude comparative de 9 trouses de réactifs détectant des anticorps anti-protéines ou peptides citrullinés. *Immunoanal Biol Spec.* 2007 ; 22 : 223-35.
31. **Schellekens GA, Visser H, de Jong BA, van den Hoogen FH, Hazes JM, Breedveld FC, et al.** The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. *Arthritis Rheum.* 2000 ; 43 : 155-63.
32. **Bukhari M, Thomson W, Naseem H, Bunn D, Silman A, Symmons D, et al.** The performance of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in predicting the severity of radiologic damage in inflammatory polyarthritis : Results from the Norfolk Arthritis Register. *Arthritis Rheum.* 2007 ; 56 : 2929-35.
33. **Van Dongen H, van Aken J, Lard L, et al.** Probable rheumatoid arthritis methotrexate versus placebo therapy (prompt)-study : indications for a window of opportunity in the treatment of patients with undifferentiated arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2006 ; 65 (suppl II) : 54.2006 (abstract).
34. **Meyer O, Nicaise-Roland P, dos Santos M, Labarre C, Dougados M, Goupille P, et al.** Serial determinations of cyclic citrullinated peptide autoantibodies predicted five-year radiological outcomes in a prospective cohort of patients with early rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2006 ; 8 : R40.
35. **Rönnelid J, Wick MC, Lampa J, Lindblad S, Nordmark B, Klareskog L, et al.** Longitudinal analysis of citrullinated protein/peptide antibodies

(anti-CP) during 5 year follow up in early rheumatoid arthritis : anti-CP status predicts worse disease activity and greater radiological progression. *Ann Rheum Dis.* 2005 ; 64 : 1744-9.

36. van der Helm-van Mil AHM, Verpoort KN, Breedveld FC, Toes REM, Huizinga TWJ. Antibodies to citrullinated proteins and differences in clinical progression of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2005 ; 7 : R949-58.

37. Vencovsky J, Machacek S, Sedova L, Kafkova J, Gatterova J, Pesakova V, et al. Autoantibodies can be prognostic markers of an erosive disease in early rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2003 ; 62 : 427-30.

Évolution des marqueurs associés à la polyarthrite rhumatoïde chez des patients traités au long cours par un inhibiteur du TNF α



Nathalie BARDIN^{1,2}, Sophie JÉGO-DESPLAT¹, Marielle SANMARCO^{1,2}

1. Laboratoire d'Immunologie, Hôpital de la Conception, Marseille, France

2. INSERM UMR-S 608, UFR de Pharmacie, Université de la Méditerranée, Marseille, France

Les inhibiteurs du TNF α constituent une avancée thérapeutique considérable dans la prise en charge des polyarthrites rhumatoïdes (PR), avec des résultats probants tant au niveau clinique que biologique et radiologique (Toussiro et al). Ils ont démontré une efficacité spectaculaire dans des situations où les traitements classiques ne permettaient pas de soulager les patients atteints de PR. Les anti-TNF α utilisés actuellement en pratique clinique sont des anticorps monoclonaux contre le TNF α : Infliximab (Remicade[®]), Adalimumab (Humira[®]) ; et des récepteurs solubles du TNF α : Etanercept (Enbrel[®]). Comme tout médicament modulant l'immunité, les anti-TNF α utilisés ne sont pas dépourvus d'effets secondaires. Infections, réactions immunoallergiques, et induction d'affections néoplasiques représentent les principales complications liées au traitement par anti-TNF α . La survenue d'autoanticorps antinucléaires et anti-ADN natif a également été rapportée chez certains patients traités par anti-TNF α (Valesini et al). Toutefois la majorité de ces études n'ont pas analysé la survenue d'autoanticorps marqueurs de la PR au delà d'un an de traitement. Le but de notre travail a été d'analyser l'effet du traitement par anti-TNF α administré au long cours sur la modification des taux d'autoanticorps associés au diagnostic de la PR tels que les anticorps anti-CCP ou les facteurs rhumatoïdes (FR).

Pour cette étude, les sérums de 33 patients atteints de PR diagnostiquée selon les critères du Collège Américain de Rhumatologie révisés en 1987 ont été analysés rétrospectivement. Parmi ces patients, 20 étaient traités depuis deux ans par Infliximab et 13 ne l'étaient pas. Différents autoanticorps, marqueurs de la pathologie, ont été recherchés : les anticorps anti-CCP par une méthode fluoro-immunoenzymatique (EliATM, Phadia) et les facteurs rhumatoïdes (FR) par des tests d'agglutination au latex.

La comparaison entre les patients traités et non traités révèle que la prévalence des FR est inférieure dans le sous-groupe des patients traités par Infliximab (55 vs 70 %) alors que celle des anticorps anti-CCP est équivalente entre les deux sous-groupes (69 vs 70 %). Afin d'approfondir ces données, 16 des 20 patients traités par Infliximab pendant deux ans ont été analysés rétrospectivement. Les principaux résultats sont présentés sur la figure 1 et mettent en évidence une réduction, statistiquement non significative, du titre des FR au cours du suivi alors que les taux d'anticorps anti-CCP n'ont pas évolué lors de ce traitement par anti-TNF α au long cours.

De tels résultats ont également été décrits par Bobbio-Pallavacini et al, suggérant que le FR représenterait un marqueur de la réponse au traitement.

Cependant d'autres études ont montré une corrélation à la fois des taux de FR et des anti-CCP à l'amélioration clinique (Atzeni F, et al). Ainsi le débat concernant l'évolution des taux des anticorps anti-CCP au cours du traitement par anti-TNF α reste ouvert. Une étude prospective multicentrique permettrait de mieux évaluer la relation de cet anticorps avec le suivi de la maladie.

Références :

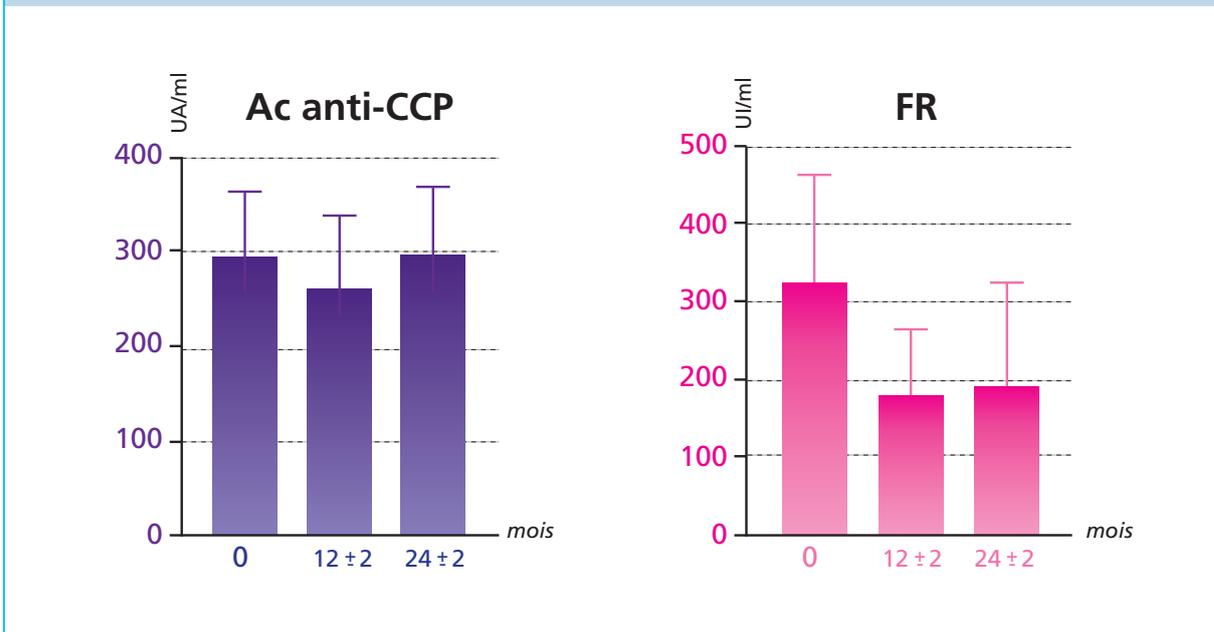
Atzeni F, Sarzi-Puttini P, Dell' Acqua D, de Portu S, Cecchini G, Cruini C, Carrabba M, Meroni PL. Adalimumab clinical efficacy is associated with rheumatoid factor and anti-cyclic citrullinated peptide antibody titer reduction: a one-year prospective study. *Arthritis Res Ther.* 2006 ; 8(1):R3.

Bobbio-Pallavicini F, Caporali R, Alpini C, Moratti R, Montecucco C. Predictive value of antibodies to citrullinated peptides and rheumatoid factors in anti-TNF-alpha treated patients. *Ann N Y Acad Sci.* 2007 ; 1109:287-95.

Toussirot E, Wendling D. The use of TNF-alpha blocking agents in rheumatoid arthritis: an update. *Expert Opin Pharmacother.* 2007 ; 8 : 2089-107.

Valesini G, Iannuccelli C, Marocchi E, Pascoli L, Scalzi V, Di Franco M. Biological and clinical effects of anti-TNFalpha treatment. *Autoimmun Rev.* 2007;7:35-41.

Figure 1 : Évolution des taux des anticorps anti-CCP et des titres de FR chez des patients traités par Infliximab sur une période de 24 mois



Calendrier des manifestations

13th International Symposium of Celiac Disease

Amsterdam, Pays-Bas
6-8 avril 2009

26^e Colloque CORATA IBS

Marnes-la-Vallée, France
26-28 mai 2009

14th International Vasculitis & ANCA Workshop

Copenhague, Danemark
6-9 juin 2009

28th Congress of the European Academy of Allergology and Clinical Immunology (EAACI 2009)

Varsovie, Pologne
6-10 juin 2009

Federation of Clinical Immunology Societies (FOCIS 2009)

San Francisco, Californie
11-14 juin 2009

Latin American Congress on Autoimmunity

Buenos Aires, Argentine
30 juillet-1^{er} août 2009

9th Dresden Symposium on Autoantibodies

Dresden, Allemagne
2-5 septembre 2009

European forum on Antiphospholipid Syndrome

Marseille, France
11-12 septembre 2009

4th Asian Congress on Autoimmunity

Singapour
11-13 septembre 2009

2nd European Congress of Immunology

Berlin, Allemagne
13-16 septembre 2009

Groupe d'Étude de l'Auto-Immunité

Association GEAI

CHU Hôpital Larrey - Laboratoire d'Immunologie et d'Immunopathologie - 49033 ANGERS Cedex 01

René-Louis HUMBEL

Président du GEAI - LLIP

L-4149 ESCH-SUR-ALZETTE

LUXEMBOURG

Tél. : 00 352 488 288 380 - Fax : 00 352 488 288 385

E.mail : rlhumbel@llip.lu

Chantal ANDRÉ

Vice-Présidente du GEAI - CHU Henri Mondor

Service d'Immunologie Biologique

51, av. du Mal de Lattre de Tassigny - 94010 CRÉTEIL

Tél. : 01 49 81 28 86 ou 01 49 81 22 98 (sec) - Fax : 01 49 81 28 97

E.mail : chantal.andre@hmn.aphp.fr

Alain CHEVAILLER

Trésorier du GEAI - CHU Hôpital Larrey

Laboratoire d'Immunologie et d'Allergologie

49933 ANGERS Cedex 9

Tél. : 02 41 35 47 89 ou 02 41 35 35 77 - Fax : 02 41 35 47 83

E.mail : alchevailer@chu-angers.fr

Isabel ABREU

Universidade Nova de Lisboa

Faculdade de Ciências Médicas

Departamento Universitário de Imunologia

Campo Santana, 130

1169-056 Lisboa

Tél. : +351 21 880 30 45 - Fax : +351 21 885 34 80

E.mail : iabreu.imuno@fcm.unl.pt

Pascale CHRÉTIEN

CHI

Service Hématologie et Immunologie

49, avenue de Verdun - 94000 CRÉTEIL Cedex

Tél. : 01 45 17 53 88 ou 01 45 17 53 33 (sec) - Fax : 01 45 17 53 49

E.mail : pascale.chretien@chicreteil.fr

Andrée ESCANDE

CHU Saint Éloi

Laboratoire d'Immunologie

Avenue Bertin Sens - 34295 MONTPELLIER Cedex

Tél. : 04 67 33 71 35 - Fax : 04 67 33 71 29

E.mail : a-escande@chu-montpellier.fr

Nicole FABIEN

HC LYON SUD

Laboratoire d'immunologie

UF Autoimmunité et Système Complément

69495 PIERRE-BENITE Cedex

Tél. : 04 78 86 66 83 - Fax : 04 78 56 90 60

E.mail : nicole.fabien@chu-lyon.fr

Françoise FORTENFANT

Hôpital Rangueil

Laboratoire d'Immunologie

Avenue Jean Poulhes - 31403 TOULOUSE Cedex 4

Tél. : 05 61 32 34 27 (direct) ou 05 61 32 34 31 (sec)

Fax : 05 61 32 34 30

E.mail : fortenfant.f@chu-toulouse.fr

Joëlle GOETZ

CHU Haute-pierre

Laboratoire d'Immunologie

Avenue Molière - 67098 STRASBOURG Cedex

Tél. : 03 88 12 75 26 - Fax : 03 88 12 81 34

E.mail : joelle.goetz@chru-strasbourg.fr

Catherine JOHANET

Unité d'Immunologie

Laboratoire Central d'Immunologie

184, faubourg St-Antoine - 75571 PARIS Cedex 12

Tél. : 01 49 28 20 11 - Fax : 01 49 28 30 46

E.mail : catherine.johanet@sat.aphp.fr

Bruno LARIDA

Bio-Rad Laboratories

4000 Alfred Nobel Drive

Hercules, CA 94547 - USA

Tél. : +1 (510) 741-6050 - Fax : +1 (510) 741-5823

E.mail : bruno_larida@bio-rad.com

Jean-Claude MONIER

20, rue de l'Oratoire - 69300 CALUIRE

Tél. : 04 78 29 66 86

fax : 04 78 29 66 86

E.mail : moniersurf@aol.com

Nils Olivier OLSSON

CHU - Plateau Technique de Biologie

Laboratoire d'Immunologie

2, rue Angélique Ducoudray

21079 DIJON Cedex

Tél. : 03 80 29 33 72 ou 03 80 29 32 26 (labo)

ou 03 80 29 30 31 (standard)

Fax : 03 80 29 37 87

E.mail : nils.olsson@chu-dijon.fr

Marielle SANMARCO

Hôpital de la Conception - Pavillon Cornil

Laboratoire d'Immunologie

147, boulevard Baille - 13385 MARSEILLE Cedex 05

Tél. : 04 91 38 39 07 (sec)

Fax : 04 91 38 36 33

E.mail : msanmarco@mail.ap-hm.fr

Jean SIBILIA

CHU Haute-pierre

Service Rhumatologie

67098 STRASBOURG

Tél. : 03 88 12 79 53 ou 03 88 12 79 55

Fax : 03 88 12 81 50

E.mail : jean.sibilia@wanadoo.fr

Marie-France TAILLEFER

Laboratoire BIOCENRE

9, rue d'Hespel

59910 BONDUES

Tél. : 03 20 23 23 52 - Fax : 03 20 23 23 52

E.mail : mftaillefer@nordnet.fr

Laurent TESTE

Secrétaire du GEAI

Bio-Rad

3, bd R. Poincaré - 92430 MARNES LA COQUETTE

Tél. : 33 1 47 95 69 16

Fax : 33 1 47 95 62 76

E.mail : laurent.teste@bio-rad.com



Parution bisannuelle

RÉDACTEUR EN CHEF : Jean-Claude MONIER - ÉQUIPE DE RÉDACTION : Chantal ANDRÉ, Alain CHEVAILLER, Pascale CHRÉTIEN, Andrée ESCANDE, Joëlle GOETZ, René-Louis HUMBEL, Catherine JOHANET, Françoise FORTENFANT, Nils Olivier OLSSON, Marielle SANMARCO, Jean SIBILIA, Marie-France TAILLEFER

BIO-RAD, 3 bd R. Poincaré 92430 Marnes-la-Coquette

Directeur de publication : Laurent TESTE

Secrétariat du GEAI : Tél. : 01 47 95 62 56 - fax : 01 47 95 62 20

Email : laurent.teste@bio-rad.com

Association GEAI - CHU Hôpital Larrey - Laboratoire d'Immunologie et d'Immunopathologie - 49033 Angers Cedex 01

Site Internet : <http://geai-lesautoanticorps.ifrance.com/geai-lesautoanticorps>

Réalisation : EXPRESSIONS - 01 45 75 33 33

BIO-RAD