

Polyarthrite rhumatoïde et biologie ...

Le point de vue de l'immunologiste

Sylvain Dubucquoi
Laboratoire d'Immunologie, CHRU de Lille
sdubucquoi@univ-lille2.fr

FR et PR

Définition

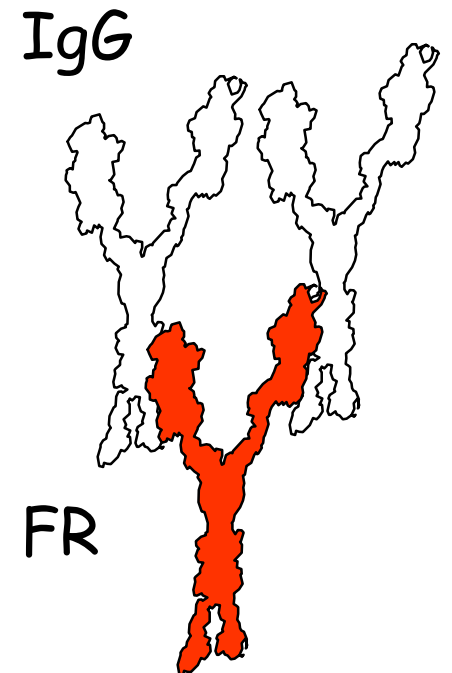
Auto-anticorps **anti-Fragment Fc des IgG** (anti- déterminant "Ga")
Présent sur les IgG1, IgG2 et IgG4 (histidine⁴³⁵) absent des IgG3

→ Généralement d'isotype **IgM** → **agglutinant**
Mais **IgG, IgA, (IgE)** existent → **non agglutinants**

→ **Polyclonal** (≠ monoclonal → Waldenström)

→ **IgG** de différentes espèces reconnues
: hommes (latex)
: lapins (Waler Rose)

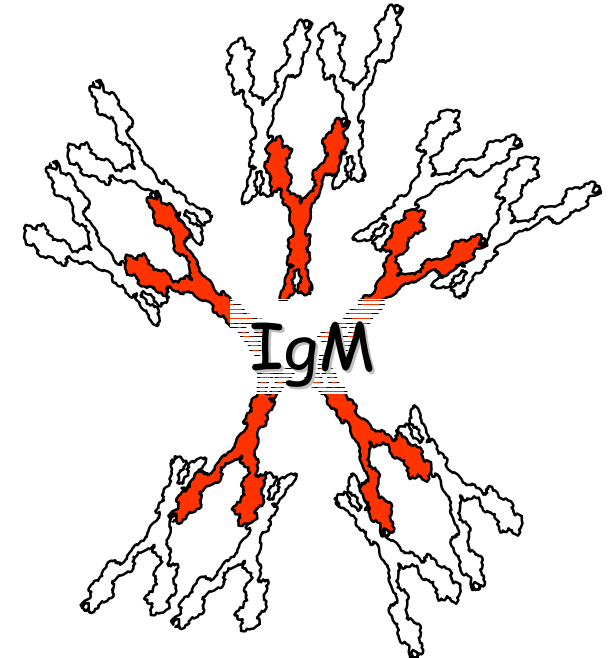
↪ intérêt = **les connectivites (?)**



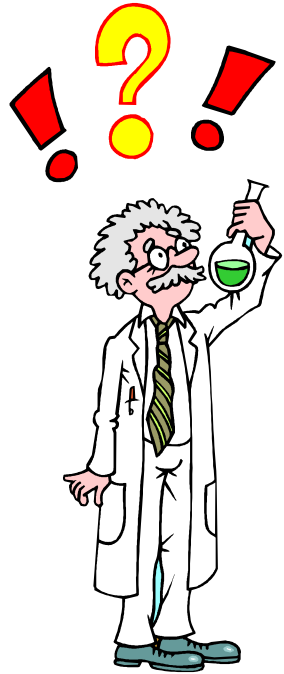
FR et PR

Intérêt

- Diagnostic → Oui
- Évolution → Non
- Pronostic → Oui (titres)



Dosage du FR



- Quelles méthodes
- Quels tests



Quelles méthodes ?

Valeurs intrinsèques des résultats de FR

Contrôle national de qualité (Compte rendu AFSAPPS 1998)

- 1602 laboratoires ont participé
- Recherche de facteurs rhumatoïdes (résultats attendus : recherche **positive**)
- Titrage :
 - Test au **latex** : 100 UI/ml / **Néphélémétrie** et **ELISA** : 250 UI/ml
 - Réaction de **Waler-Rose** : 125 UI/ml

Le taux de bonne réponse : 98,7 % (21 laboratoires = "faux négatifs")

Majorité des laboratoires : **test au latex** et **Waler-Rose** = 2 techniques d'agglutination

Remarques :

Waler-Rose et test au latex : **manquent de sensibilité** (faux négatifs !)

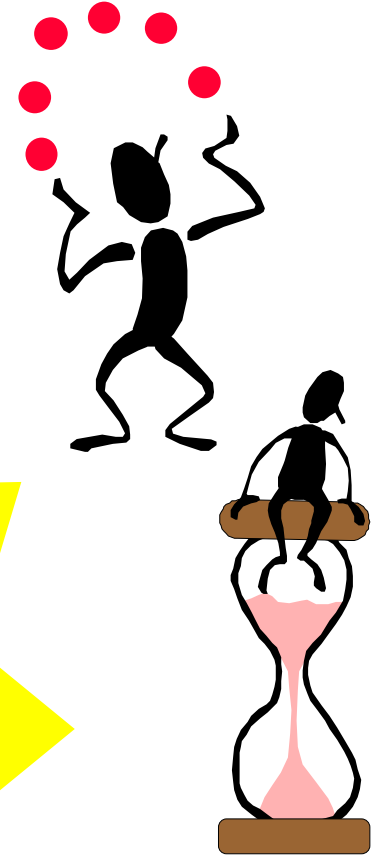
Certains **faux négatifs** liés à : mauvaises manipulations ou évaluation incorrecte de l'agglutination.

Techniques de précipitation (**néphélémétrie**, **turbidimétrie**), et **ELISA** : **résultats plus homogènes**.

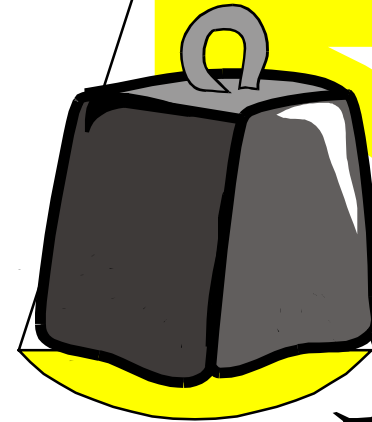
CONCLUSION : problèmes de standardisation

Choix de la méthode ...pour le biologiste ?

Facile à réaliser



Peu consommateur
de temps



Économique

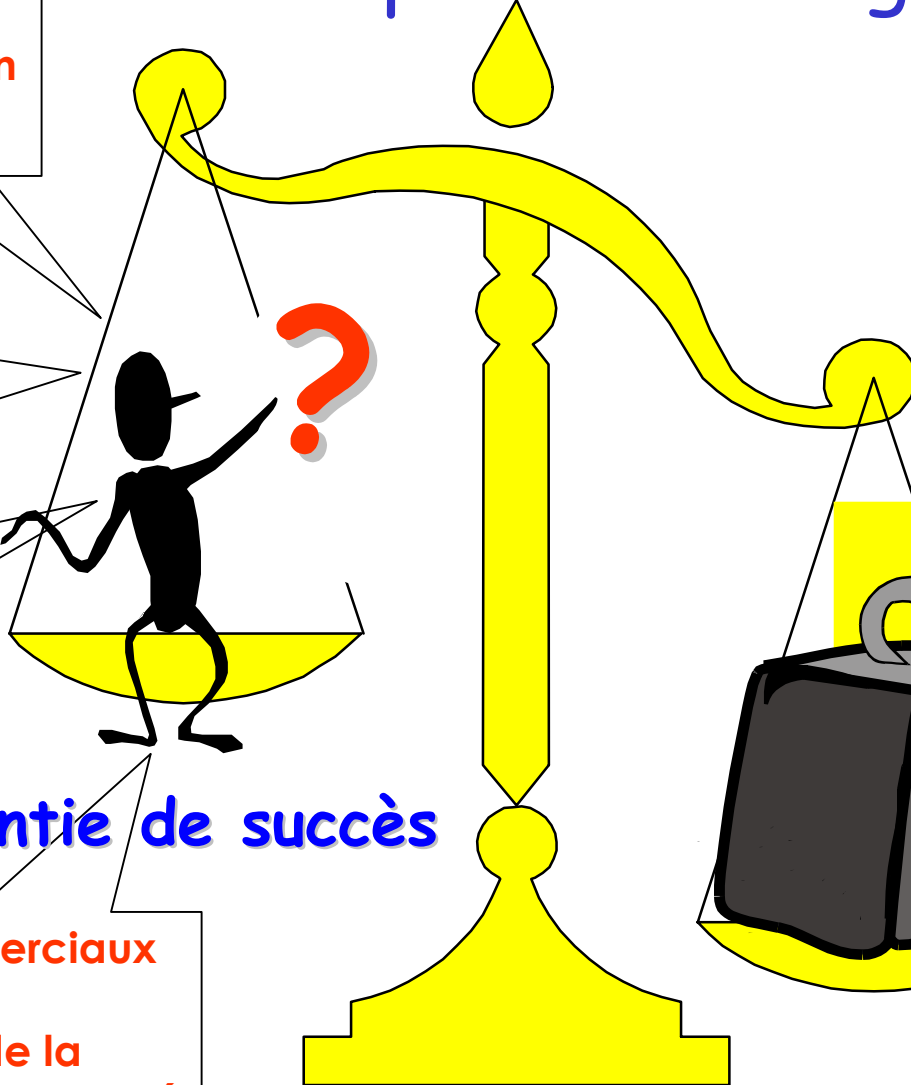
Absence
d'information
clinique

Labilité
des marqueurs
biologiques

Absence de
méthode de
référence

Garantie de succès

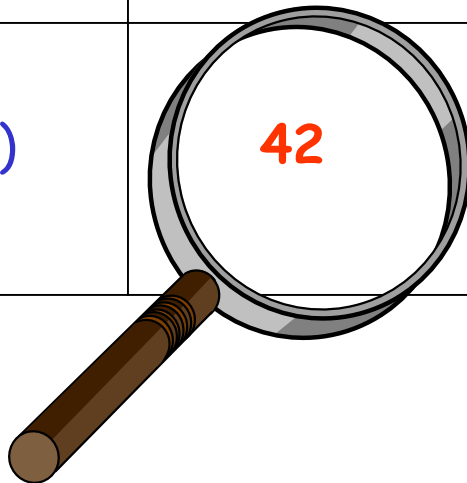
coffrets commerciaux
≠
pérennité de la
qualité des réactifs utilisés



Évaluation des différentes méthodes

PR > 2ans (n= 32)	Latex	ELISA (humain)	Waaler Rose	ELISA (Lapin)
Sensibilité (%)	78	91	40	53

PR < 6 mois (n= 14)	Latex	ELISA (humain)	Waaler Rose	ELISA (Lapin)
Sensibilité (%)	42	100	35	50

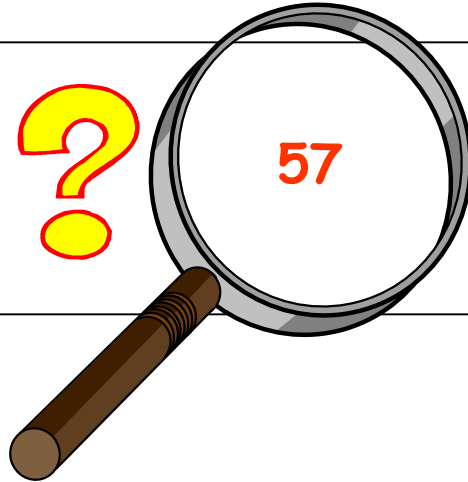


Attention : biais !!

Évaluation des différentes méthodes

En pratique courante :

PR < 6 mois	Latex	ELISA (humain)	Waaler Rose	ELISA (Lapin)
Sensibilité (%)	?	57	?	46



Quels tests ?

Dosages FR anti-IgG **humaines** (latex, néphélémétrie, ou ELISA)

Méthode **sensible** / **peu spécifique**

Dosages FR anti-IgG **animales** (Waler Rose, néphélémétrie, ou ELISA)

Méthode **peu sensible** mais **spécifique**

A l'échelle d'une population !!

Quels tests ?

	Néphélémétrie	Waler Rose	ELISA (humain)	ELISA (Lapin)
Spécificité (%)	56	67	50	65
	Néphélémétrie	Waler Rose	ELISA (humain)	ELISA (Lapin)
Spécificité (%)			79	90

En rhumatologie !

Quels tests ?

A l'échelon individuel ?

FR "humain" positif / FR "animal" (WR) négatif : ~~jamais~~ PR ?

FR "humain" positif / FR "animal" positif : ~~toujours~~ PR ?

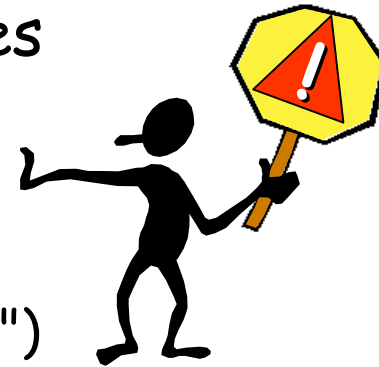
Conclusion 1

FR et PR

→ Un marqueur qui a fait ses preuves

Mais attention

- Manque de standardisation +++
- Manque de spécificité +++ ("faux positifs")
- PR séronégatives : (20-30%)
- Intérêt du WR = ?? (Se= 40%/ Sp =90%)



Amélioration des performances : *une recette ?*

Le dialogue clinico-biologique !!



Place des autres marqueurs biologiques de la PR

(accessibles en routine de laboratoire)

- Anti-perinuclear factor (APF)
- Anti-keratin Ab (AKA)
- Anti-filaggrin Ab (AFA, anti- CCP)

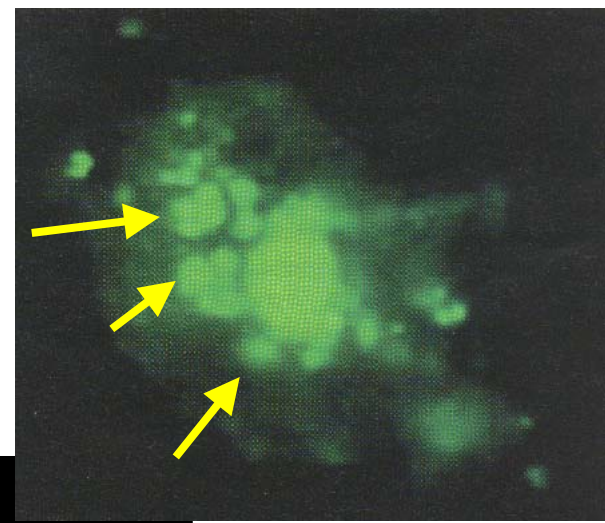
PR : tests diagnostiques au laboratoire

PR avérées (> 2ans)	Sensibilité	Spécificité
Les facteurs anti-périnucléaires (1964)	36 à 55 %	90 à 98%
Les anti-kératines (1979)	40 à 70 %	73 à 90 %
PR débutantes (< 2ans)	Sensibilité	Spécificité
Les facteurs anti-périnucléaires	26 à 56 %	79 à 95%
Les anti-kératines	10 à 47 %	84 à 100 %

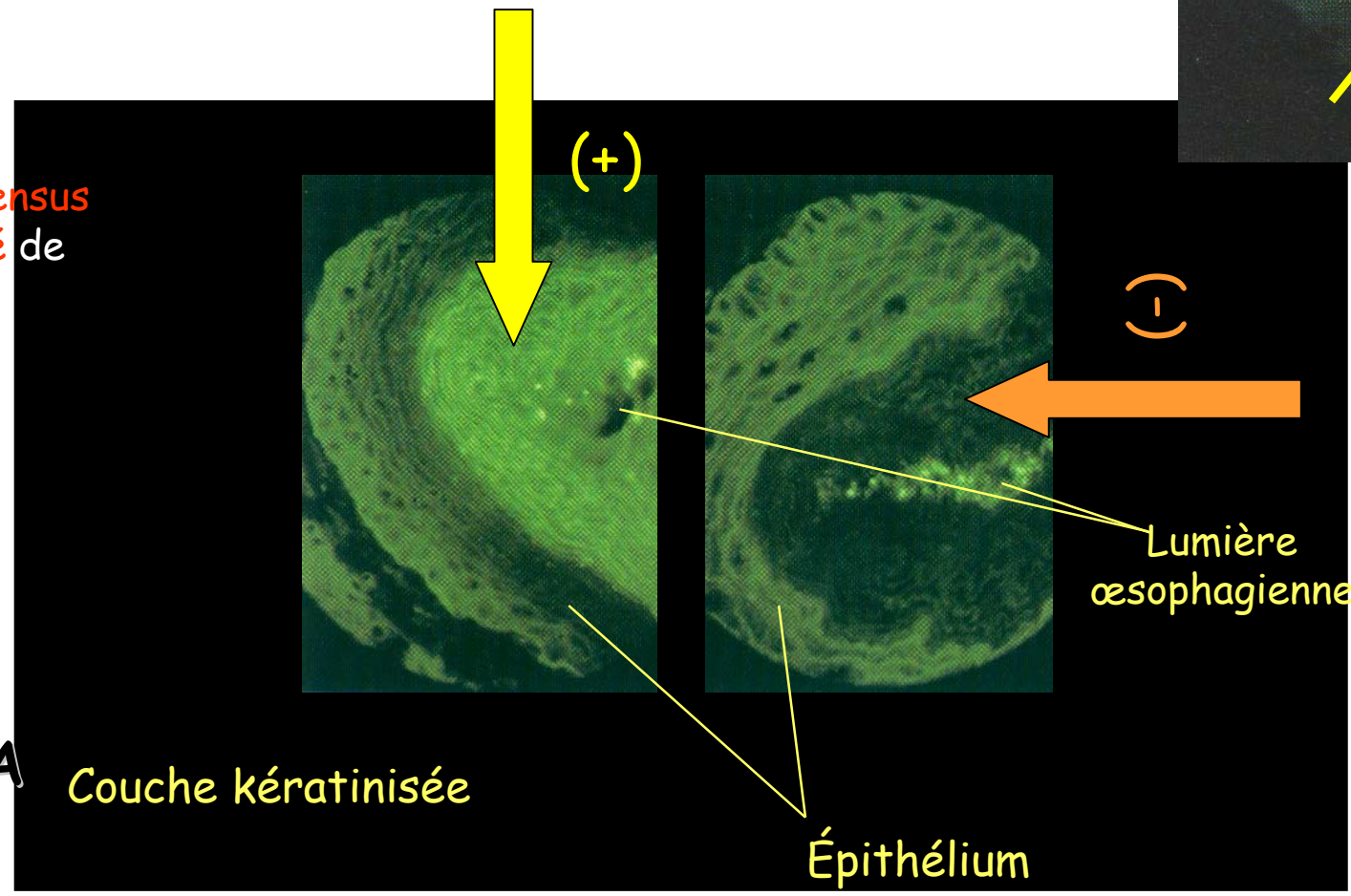
Immunofluorescence

- 5% de "bons donneurs"
- **Aucune garantie** de la pérennité du caractère "bon donneur"

APF

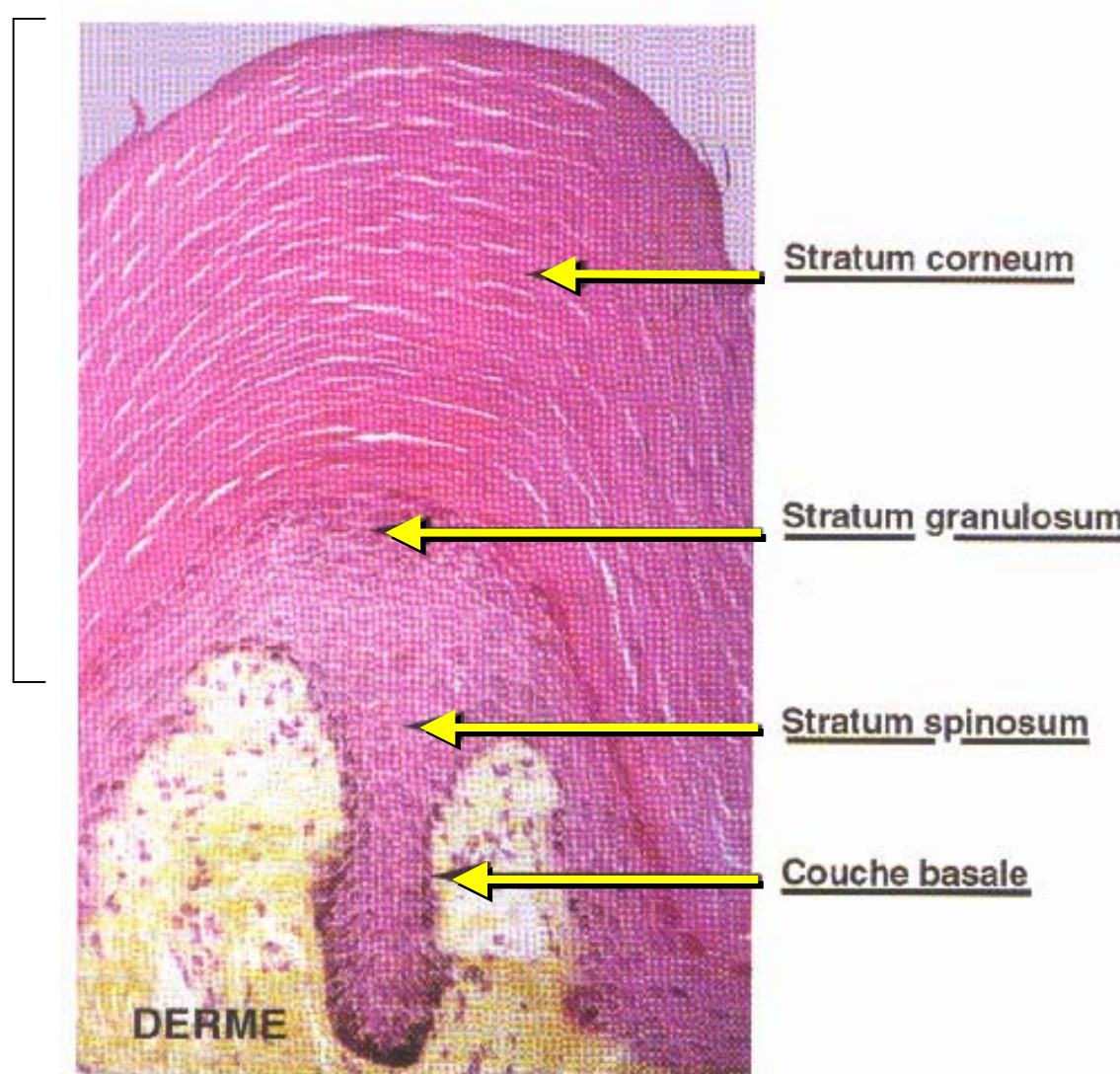


- Pas de consensus
- Subjectivité de lecture



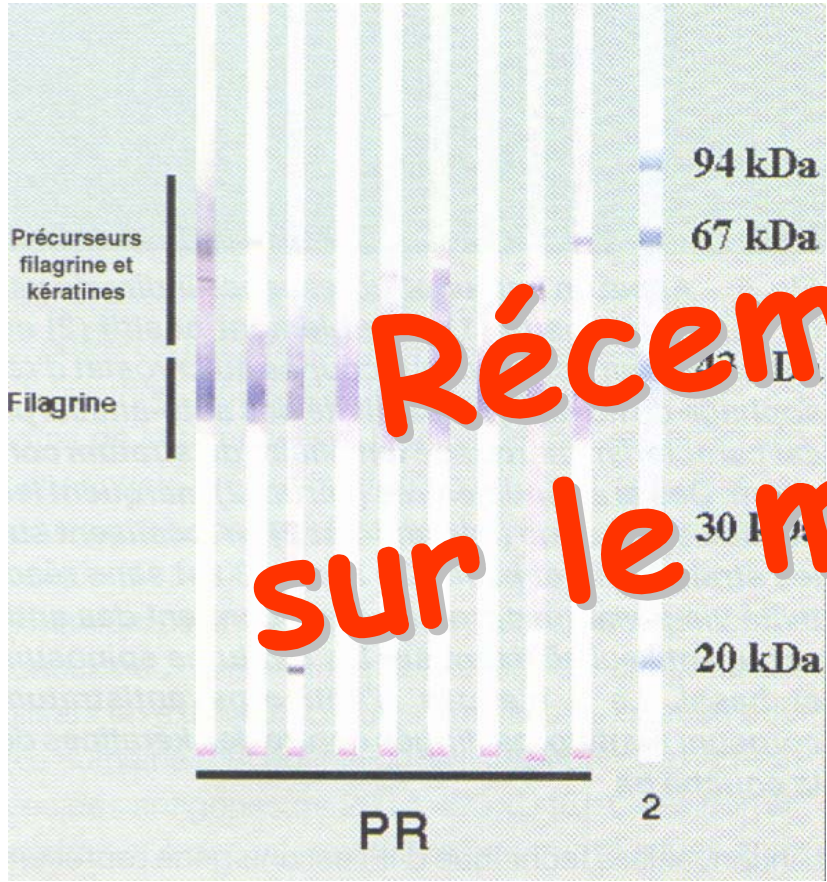
Manque de standardisation

(pro)filaggrine
citrullinée



Pallier les limites de l'immunofluorescence

Western Blot

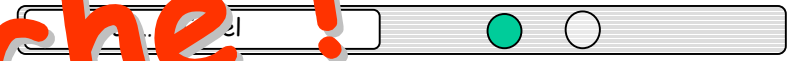


Récemment sur le marché!

Filagrine totale, purifiée

Pas de distinction de la réactivité filagrine native/citrullinée

Immunodot



ELISA

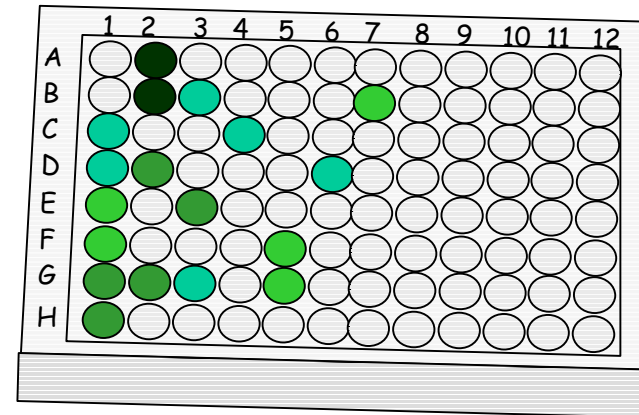


Image : JC Monier, N Fabien, CHU Lyon

Historique : Rappel des travaux de Schellekens

(J Clinical Investigation, 1998: 101; 273-281)

Peptides de filagrine : $\text{fila}_{306-324}$ (région c-terminale de la molécule)

- non citrulliné = cfo

- citrullinés = cfc1 -cfc9 ("mono" ou "bi"-citrullinés)

(citrullination = dé-imination = remplacer un résidu arginine par une citrulline)

Comparaison de la réactivité sérique vis-à-vis des différents peptides dans populations PR et contrôle (Sains, APR, LED, SS)

Sensibilité : $\approx 50\%$

Spécificité : $> 95\%$

Mélange des peptides (cfc1 à cfc9)

Sensibilité : $\approx 76\%$

Spécificité : $> 95\%$



Intérêt du peptide cyclique de la filagrine citrullinée (anti-CCP)...

Rappel de la littérature

The diagnostic properties of RA Ab recognizing a cyclic citrullinated peptide.

G. A. Schellekens et al. Arthritis & Rheumatism. 2000. 43, 155-63

- Un seul peptide de la filagrine citrullinée mais cyclique
- Sensibilité = 68%
- Spécificité > 95%

The prognostic value of Anti-cyclic citrullinated peptide Ab in patients with

recent onset RA. E.J.A. Kroot et al. Arthritis & Rheumatism. 2000. 43, 1831-5.

- Présence d'anti-CCP = mauvais pronostic (formes érosives)

Diagnostic accuracy of the anti-citrulline antibody assay for RA. N. Bizarro et al.

Clinical Chemistry. 2001. 47, 1089-93

- Sensibilité = 41% (31-50%)
- Spécificité = 97.8 (95-100%)

Performances diagnostiques

Comparaison de méthodes

	CCP2 Commercial	LCP Home made	AKA IFI	RF* EIA	CCP2 - RF +	CCP2 + RF -	CCP or RF +
RA (N= 140)	64.3	47.9	48.6	60.0	10.7	8.6	75.0
RA > 2yrs (N= 75)	77.3	60.0	61.3	66.7	5.3	9.3	82.7
RA < 2yrs (N= 65)	49.2	33.8	33.8	52.3	15.4	7.7	53.8
< 6 months (N= 21)	47.6	19.0	9.5	57.1	4.8	4.8	61.9
Specificity	96.4	97.1	93	69			

* RF : rheumatoid factor anti-human IgG

Conclusion 2

~~Ac anti-IFI~~ *ne citrullinée (CCP)* :   CCP2 !

Un marqueur intéressant pour le **diagnostic de la PR**

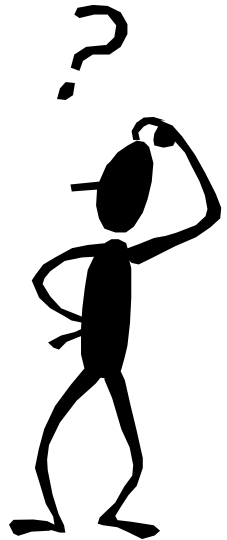
✓ Indépendant des autres tests (FR, ...)

✓ Intérêt de l'association : FR + anti-CCP2 → +++

(Intérêt association IFI + anti- CCP2 → anecdotique)

Formes précoces → anti-CCP2 ±

Valeur pronostique = ?



À suivre ...