

Biomarqueurs en immunologie générale

Rev Med Suisse 2013; 9: 1982-91

**A. Pardon
V. Aubert
P.-A. Bart**

**Dr Agnès Pardon
Pr Pierre-Alexandre Bart
Vincent Aubert**
Service de médecine interne (AP, PAB)
Service d'immunologie et allergie (VA, PAB)
Département de médecine
CHUV, 1011 Lausanne
agnes.pardon@chuv.ch
pierre-alexandre.bart@chuv.ch
vincent.aubert@chuv.ch

Biomarkers in clinical immunology

In a current perspective of individualized medicine, biomarkers appear as a simple and readily available aid to assist clinicians in the identification and monitoring of diseases whose diagnosis is difficult. Basically, we know the limited performance of medical history and of clinical examination; therefore, the use of laboratory tests is often seen as the panacea to solve the clinical enigma. The purpose of this article is to analyze a few biomarkers commonly processed in the immunology laboratory (ANA, ANCA, anti-tTG, rheumatoid factor and anti-CCP) and to review the principle, the usefulness and the performance of these tests in specific clinical situations. We will see that, far from supplanting history and physical examination, these immunological biomarkers take their full value as a supplement to clinical information!

Dans une perspective actuelle d'individualisation de la médecine, les biomarqueurs apparaissent comme une aide simple et aisément disponible en vue de contribuer à l'identification et au suivi clinique de pathologies dont le diagnostic est difficile. En effet, nous savons la valeur limitée de l'anamnèse et de l'examen clinique; dès lors, le recours à des analyses est souvent vu comme la panacée susceptible de résoudre l'énigme clinique. Le but de cet article est de reprendre quelques biomarqueurs couramment exécutés par le laboratoire d'immunologie (ANA, ANCA, anti-tTG, FR et anti-CCP) et d'en revoir le principe, l'utilité et le rendement dans des situations cliniques spécifiques. Nous verrons que, bien loin de supplanter anamnèse et clinique, ces biomarqueurs ne prennent leur pleine valeur qu'en complément à l'information clinique!

INTRODUCTION

Les biomarqueurs sériques sont régulièrement utilisés en pratique médicale pour l'aide diagnostique lors de syndromes inflammatoires ou de situations cliniques peu claires. Le but de cet article n'est pas de passer en revue tous les biomarqueurs immunologiques utilisés en routine mais d'en discuter cinq, utiles principalement pour le diagnostic de différentes maladies inflammatoires ou auto-immunes. Il s'agit d'en décrire la méthode de détection, l'interprétation et l'utilité pour le diagnostic et le suivi de la maladie. Nous nous limiterons donc aux anticorps antinucléaires (ANA), aux anticorps anticytoplasme des neutrophiles (ANCA), aux anticorps antitransglutaminase (anticorps anti-tTG), et finalement au facteur rhumatoïde (FR) et aux anticorps antipeptide cyclique citrulliné (anticorps anti-CCP).

ANTICORPS ANTINUCLÉAIRES, ANTICORPS ANTICYTOPLASME DES NEUTROPHILES ET MALADIES AUTO-IMMUNES

Les maladies auto-immunes systémiques sont caractérisées, pour certaines, par la présence d'anticorps circulants hétérogènes dirigés contre divers antigènes constituants du noyau ou du cytoplasme cellulaire. Certains de ces anticorps sont utilisés comme biomarqueurs. Si le diagnostic des maladies inflammatoires se base essentiellement sur l'anamnèse et l'examen clinique, l'usage de marqueurs sérologiques peut apporter une aide plus ou moins importante en fonction de leur sensibilisé et de leur spécificité.¹ Nous allons donc nous intéresser aux deux anticorps les plus souvent demandés pour l'investigation de problèmes inflammatoires: 1) les ANA et 2) les ANCA.

Anticorps antinucléaires anciennement dénommés «facteurs antinucléaires» (FAN)

Les ANA ont été mis en évidence pour la première fois en 1957 dans le sérum de patients atteints de lupus érythémateux systémique (LES).¹ Ces anticorps sont dirigés contre une variété d'antigènes nucléaires et sont fréquemment retrouvés

Tableau 1. Proportion de patients (en pour cent) caractérisés par la présence dans leur sérum d'anticorps antinucléaires positifs pour diverses maladies inflammatoires

(Adapté des réf.^{1,5}).

Diagnosics	%
Lupus érythémateux systémique	95-100
Lupus induit (médicaments)	100
Syndrome de Sjögren	80-90
Sclérodermie	60-90
Connectivites mixtes	100
Polyarthrite rhumatoïde	40-60
Polymyosite	50-75

dans le sérum de patients atteints de connectivité. Leur valeur diagnostique réside dans leur bonne sensibilité à dépister ces maladies (tableau 1). En raison de la faible spécificité de ce test, la recherche d'anticorps contre différents antigènes nucléaires spécifiques est effectuée dans un deuxième temps à l'aide d'antigènes purifiés ou recombinants isolés sur phase solide (méthode ELISA (*Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay*), *dot assay*, électroluminescence, *multi heads*, etc.) (figure 1).

L'immunofluorescence indirecte (IFI) est la technique la plus répandue et la plus largement décrite comme test de dépistage des ANA. Elle est considérée comme le gold standard dans les dernières recommandations de l'American College of Rheumatology (ACR). Le sérum du patient est incubé avec des cellules issues de lignées tumorales épithéliales de la trachée humaine (HEp-2) caractérisées par un

gros noyau, de gros nucléoles et de nombreuses mitoses, permettant une bonne visualisation des structures nucléaires reconnues par les anticorps du patient. Les anticorps fixés sur ces cellules sont ensuite révélés grâce à un conjugué anti-IgG humain couplé à un fluorochrome. La lecture des lames et leur interprétation se font à l'aide d'un microscope à fluorescence. L'interprétation des différents aspects de la fluorescence est parfois délicate et peut varier d'un observateur à l'autre. La fluorescence observée a une valeur d'orientation diagnostique. En effet, les différents types de fluorescence correspondent à différents antigènes nucléaires associés à différentes connectivités (tableau 2).¹ En cas de résultat positif, le titre d'ANA correspond à la dilution du sérum à laquelle la fluorescence disparaît (la limite de positivité des ANA dans la plupart des laboratoires est une dilution de 1/80). L'IFI est considérée comme une méthode très sensible mais peu spécifique. En effet, la présence d'ANA est également retrouvée dans certaines pathologies infectieuses (tuberculose, VIH, hépatite virale chronique), certaines pathologies tumorales ou dans les hépatites auto-immunes, mais aussi dans une partie de la population générale, notamment au-delà de 65 ans. En règle générale, le titre est rarement supérieur à 1:160. Dans ces situations-là, il est conseillé de répéter le dosage à distance car leur présence à un titre élevé est souvent transitoire.

Il est donc important de se souvenir que plus le taux (titre de la dilution) est élevé, plus la présence de ces ANA va devenir significative. C'est pour cette raison que, en cas de positivité significative, une recherche par ELISA des anticorps plus spécifiquement dirigés contre certains antigènes nucléaires (ADN versus nucléoprotéines) sera effectuée, selon un algorithme qui peut être résumé de la même manière que dans la figure 1. En cas de positivité, cette recherche permettra d'identifier plus spécifiquement certaines pathologies inflammatoires (tableau 3). En pratique, face à une suspicion anamnestique et clinique de maladie auto-immune, le dosage des ANA devient alors utile comme test de dépistage. En effet, la présence d'ANA positifs, sans clinique évocatrice d'une maladie auto-immune, a une valeur prédictive positive (VPP) très basse. Les ANA ne doivent donc pas être utilisés en routine. Cependant, malgré leur faible spécificité, ceux-ci restent particulièrement utiles dans le diagnostic du LES où ils ont une excellente sensibilité

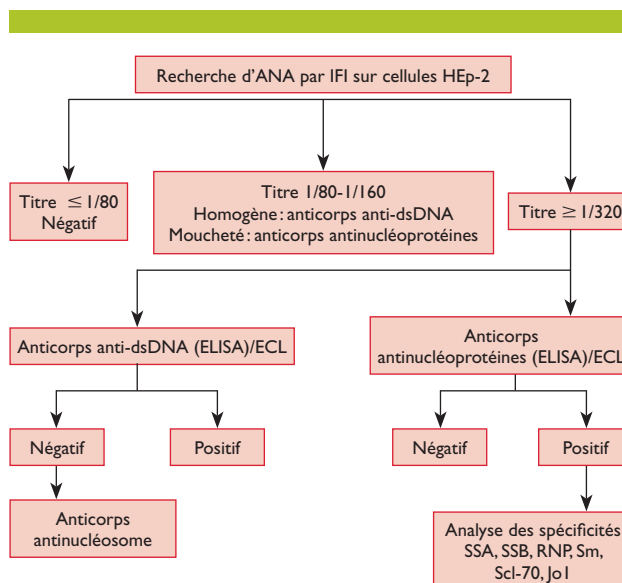


Figure 1. Algorithme proposé pour la recherche d'anticorps antinucléaires (ANA)

(Adaptée et simplifiée à partir de réf.¹).

IFI: Immunofluorescence indirecte; ELISA: Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay; RNP: ribonucléoprotéines; dsDNA: double-stranded DNA; Sm: (anti-)Smith; ECL: électrochimoluminescence.

Tableau 2. Aspect des anticorps antinucléaires sur cellule HEp-2 à l'IFI

(Adapté de réf.¹).

Aspects	Antigènes	Maladies associées
Homogène	dsDNA, histones	LES, lupus induit
Moucheté		
• Grossier	RNP, Sm	MCTD, LES
• Moyen	SSA, SSB	Sjögren, LES
• Fin	Scl-70	Sclérodermie
• Discret	Centromère	CREST
Nucléolaire	ARN polymérase I	Sclérodermie

LES: lupus érythémateux systémique; MCTD: mixed connective tissue disease; CREST: calcinose, phénomène de Raynaud, dysmotilité œsophagienne, sclérodactylie, télangiectasies; RNP: ribonucléoprotéines; dsDNA: double-stranded DNA; ARN: acide ribonucléique; Sm: (anti-)Smith; IFI: immunofluorescence indirecte.



Tableau 3. Valeur de l'ELISA dans le diagnostic de certaines connectivites en fonction de la cible antigénique choisie
(Adapté et simplifié à partir de réf. 1).

Connectivite	Anticorps associé (ELISA)	Sensibilité (%)	Spécificité (%)
Lupus érythémateux systémique	Anti-dsDNA	19-82	96-99
	Antinucléosome	64	99
	Anti-Sm	5-30	Elevée
	Anti-RNP	25-45	–
	Anti-Ro/SSA	25-35	87-94
Syndrome de Sjögren	Anti-Ro/SSA	8-70	87
	Anti-La/SSB	14-60	94
Sclérodémie	Anti-Scl-70	20-26	90-100
CREST	Anticentromère	61-65	84-98

ELISA: Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay; CREST: calcinose, phénomène de Raynaud, dysmotilité œsophagienne, sclérodactylie, tégumentaires; RNP: ribonucléoprotéines; dsDNA: double-stranded DNA.

(sensibilité 93%, spécificité 57%). C'est pourquoi, ils font partie de longue date des critères diagnostiques du LES établis par l'ACR. Ces anticorps positifs se retrouvent également fréquemment dans le cadre d'une sclérodémie systémique (sensibilité 85%, spécificité 54%) et leur absence devrait faire diriger les recherches vers un autre diagnostic. Cependant, les ANA deviennent moins utiles dans le diagnostic d'autres pathologies auto-immunes telles que l'arthrite rhumatoïde, la polymyosite ou la dermatomyosite où ils sont retrouvés seulement dans la moitié des cas (tableau 1). Par ailleurs, aucune étude n'a pu démontrer l'utilité de répéter le dosage des ANA dans le suivi de la maladie.²

Anticorps anticytoplasme des neutrophiles

Les ANCA sont des anticorps dirigés contre des antigènes cytoplasmiques des neutrophiles et des monocytes. Ce sont principalement des IgG que l'on dose mais il existe d'autres isotypes (IgA et IgM). Quoique présents dans de nombreuses maladies inflammatoires (tableau 4), les ANCA sont surtout utilisés dans le diagnostic des vasculites des petits vaisseaux (granulomatose de Wegener, polyangéite microscopique, glomérulonéphrite extracapillaire pauci-immune idiopathique, syndrome de Churg et Strauss).³ Comme pour les ANA, l'IFI et l'ELISA sont les deux méthodes les plus couramment utilisées pour rechercher les ANCA.¹ L'IFI, plus sensible mais moins spécifique que l'ELISA, est utilisée comme test de dépistage. Le sérum du patient est incubé avec des granulocytes neutrophiles humains fixés à l'éthanol et leur fluorescence se répartit de trois manières différentes (figure 2): 1) une répartition cytoplasmique (c-ANCA); 2) une répartition périnucléaire (p-ANCA) et 3) une répartition périnucléaire fine (ANCA atypique ou x-ANCA).³ Lorsque les ANCA reviennent positifs à l'IFI, il est conseillé de compléter l'analyse par un ELISA afin d'identifier cer-

Tableau 4. Liste des pathologies où la présence d'anticorps anticytoplasme des neutrophiles peut être retrouvée
(Adapté des réf. 3,5).

Vasculites des petits vaisseaux
• Granulomatose de Wegener (c-ANCA et PR3)
• Polyangéite microscopique (p-ANCA et MPO)
• Syndrome de Churg et Strauss (parfois MPO ou PR3)
• Glomérulonéphrite extracapillaire pauci-immune idiopathique
Maladies inflammatoires du côlon (RCUH, maladie de Crohn)
Hépatites auto-immunes
Cholangite sclérosante primaire
Connectivite (polyarthrite rhumatoïde, lupus érythémateux systémique)
Infections (endocardites, voies respiratoires)
Tumeurs malignes (hémopathies)
Médicaments: antithyroïdien (propylthiouracile, carbimazole, hydralazine)
c-ANCA: répartition cytoplasmique des anticorps anticytoplasme des neutrophiles; PR3: protéinase 3; p-ANCA: répartition périnucléaire des anticorps anticytoplasme des neutrophiles; MPO: myéloperoxydase; RCUH: recto-colite ulcéro-hémorragique.

tains antigènes spécifiques contre lesquels sont dirigés les ANCA. Parmi ces antigènes (élastase, cathepsine G, lactoferrine et lysozyme), il y en a deux qui ont été largement étudiés et reliés au diagnostic de granulomatose de Wegener et de polyangéite microscopique: les protéinases 3 (PR3) et les myéloperoxydases (MPO), respectivement. Ce sont des enzymes contenues dans les granules primaires et secondaires des granulocytes neutrophiles et dans les lysosomes des monocytes. Plus de 90% des c-ANCA sont dirigés contre la PR3, alors qu'environ 80-90% des p-ANCA reconnaissent la MPO. Dans la maladie de Wegener, les ANCA

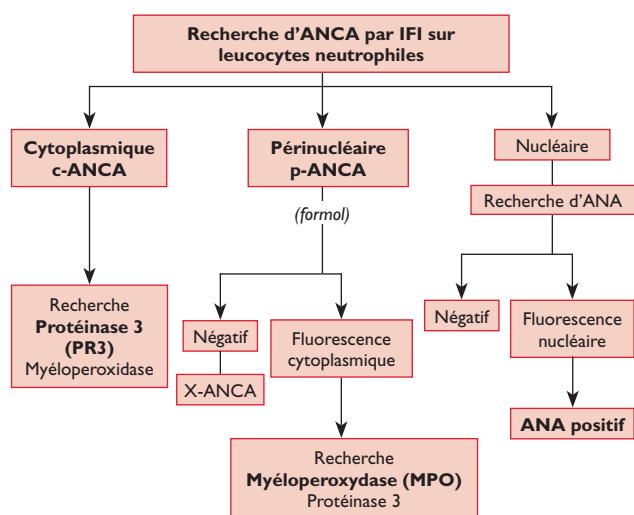


Figure 2. Algorithme proposé pour la recherche d'anticorps anticytoplasme des neutrophiles (ANCA)

(Adaptée et simplifiée de réf. 1).

IFI: immunofluorescence indirecte; c-ANCA: répartition cytoplasmique des anticorps anticytoplasme des neutrophiles; p-ANCA: répartition périnucléaire des anticorps anticytoplasme des neutrophiles.



Tableau 5. Sensibilité des anticorps antiprotéinase 3 et antimyéloperoxydase dans diverses pathologies auto-immunes

(Adapté de réf.⁴); GN: glomérulonéphrite.

	Sensibilité antiprotéinase 3	Sensibilité antimyéloperoxydase
Granulomatose de Wegener	85%	10%
Polyangéite microscopique	45%	45%
GN pauci-immune idiopathique	25%	65%
Syndrome de Churg et Strauss	10%	60%
Périartérite noueuse	5%	15%

sont le plus souvent de type c-ANCA et dirigés contre la PR3, alors que dans la polyangéite microscopique ou la glomérulonéphrite pauci-immune, ce sont le plus souvent des p-ANCA que l'on met en évidence, dirigés contre la MPO. Cependant, on peut retrouver ces deux types d'anticorps dans la maladie de Wegener et la polyangéite microscopique, raison pour laquelle ces deux maladies ne peuvent être distinguées uniquement sur la base de la spécificité de ces anticorps (tableau 5). Les ANCA atypiques (x-ANCA) n'ont pas de lien avec une maladie spécifique et il n'y a pas d'antigène particulier qui ait été mis en évidence jusque-là.⁴ Il est important de rechercher les ANCA et les antigènes spécifiques car la combinaison d'ANCA avec anticorps anti-PR3 ou anti-MPO mène à une spécificité pour le diagnostic d'une vasculite proche de 99%.¹ Par exemple, dans la granulomatose de Wegener, la combinaison des c-ANCA avec anti-PR3 a une sensibilité de 58% et une spécificité de 99% (tableau 5).

Les récidives et les poussées inflammatoires sont fréquentes dans les vasculites à ANCA (> 50% pour la maladie de Wegener et 25-35% pour la polyangéite microscopique) et parfois sévères.³ Elles nécessitent le plus souvent un traitement immunosuppresseur, plus ou moins lourd. Le rôle des ANCA comme potentiel marqueur de récurrence a été largement examiné, en particulier dans la granulomatose de Wegener et la polyangéite microscopique. Généralement,

le taux d'ANCA est élevé durant la phase active de la vasculite; il se normalise après un à cinq mois de traitement, puis durant la phase de rémission. Fréquemment, les ANCA s'élèvent à nouveau au moment d'une récurrence. La sensibilité d'une élévation des ANCA pour le diagnostic d'une récurrence peut largement varier (de 24 à 100%).³ De manière générale, une augmentation isolée des ANCA ne justifie pas de modification du traitement, mais impose un suivi plus rapproché.

ANTICORPS ANTITRANSGLUTAMINASE TISSULAIRE ET MALADIE CÉLIAQUE

La prévalence de la maladie cœliaque est très variable dans la population en générale: presque inexistante en Asie et en Afrique, sa prévalence dans les pays occidentaux peut aller de 1:10 000 en ne considérant que les cas symptomatiques à 1:110 si l'on tient compte également des cas identifiés par utilisation des marqueurs sérologiques. Il s'agit d'une maladie inflammatoire chronique de la muqueuse de l'intestin grêle chez des personnes génétiquement susceptibles, typiquement médiée par les lymphocytes T suite à l'ingestion de gluten, protéine se trouvant dans de nombreuses céréales (blé, avoine, orge, seigle).⁶ Après ingestion, le gluten passe à travers la muqueuse puis la sous-muqueuse de l'intestin grêle où il est modifié par l'enzyme «tissue transglutaminase» (tTG). Il devient ensuite capable de se lier avec haute affinité aux HLA DQ2 et DQ8 des cellules présentatrices d'antigènes, stimulant ainsi une réaction immunitaire cellulaire et humorale, entraînant la destruction des villosités de la muqueuse intestinale.⁷ L'inflammation reste le plus souvent limitée au duodénum et au jéjunum proximal. Ces anomalies mènent secondairement à une malabsorption dont l'intensité est variable (fer, vitamine D, calcium, folates...). Les signes cliniques sont souvent aspécifiques. Du reste, on se doit d'évoquer une maladie cœliaque en cas d'anémie ferriprive sans cause évidente de spoliation.⁷

Méthode de détection

Durant les années 80, le diagnostic sérologique de la maladie cœliaque se faisait en dosant les anticorps anti-gliadine. Cependant, en raison d'une sensibilité et surtout d'une spécificité mauvaises, avec de nombreux faux posi-

Tableau 6. Performances des différents tests de détection des anticorps dans la maladie cœliaque

(Adapté des réf.^{5,7}). ELISA: Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay.

Anticorps	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	Technique	Remarques
• Antigliadine IgA • Antigliadine IgG	68-91 65-100	42-80 50-90	ELISA	Non recommandé actuellement
• Antiendomysium IgA	85-100	95-100	Immunofluorescence indirecte	Peu recommandé actuellement
• Antitransglutaminase IgA • Antitransglutaminase IgG	95-100 75-95	95-100 94-100	ELISA	Recommandé actuellement
• Antipeptide modifié gliadine IgA • Antipeptide modifié gliadine IgG	90 92-95	95 84-100	ELISA	Nouveau marqueur plutôt recommandé en pédiatrie (< 4 ans), car l'anticorps antipeptide modifié gliadine apparaît avant l'anticorps antitransglutaminase



tifs, ce test a été remplacé dans les années 90 par la recherche d'anticorps antiendomysium par immunofluorescence. Celui-ci a montré une bonne sensibilité (85-98%) et une excellente spécificité (97-100%), mais avec certaines limitations (technique difficile et coûteuse). Depuis 1997 environ, c'est le dosage des anticorps anti-tTG par ELISA qui a pris le dessus dans le diagnostic de la maladie cœliaque. Ce test est très performant tant du point de vue de sa spécificité (95-97%) que de sa sensibilité (90-98%); de plus, la technique est simple et peu coûteuse.⁷ Il permet d'identifier séparément les IgA et les IgG reconnaissant une tTG humaine purifiée ou recombinante (tableau 6). Le patient n'a pas besoin d'être à jeun, mais il faut cependant vérifier qu'il ne soit pas en train de suivre un régime sans gluten. Le test peut par ailleurs être utilisé dès l'âge de deux ans.

Diagnostic de la maladie cœliaque (figure 3)

Un diagnostic précis est primordial en vue d'éviter les conséquences parfois sévères de la maladie cœliaque mais aussi l'introduction inutile d'un régime sans gluten (actuellement, seul traitement prouvé comme efficace) très contraignant pour le patient. Rappelons qu'un régime sans gluten menant à la disparition des symptômes ne permet pas de confirmer définitivement le diagnostic de maladie cœliaque. Pour les adultes, il est recommandé d'effectuer un dépistage HLA chez les patients avec un risque génétique accru de maladie cœliaque (apparentés au premier degré

de personnes atteintes de maladie cœliaque, diabète de type 1) et présentant des symptômes suggestifs de maladie cœliaque (figure 3). Chez les enfants et les adolescents avec un risque génétique accru, ou en raison d'un trouble de croissance et du développement, il est recommandé d'effectuer un dépistage sérologique tous les deux à trois ans.⁷ Dans les deux cas, il convient de rechercher la présence de HLA DQ2 et HLA DQ8. En cas de résultat négatif, une maladie cœliaque peut raisonnablement être exclue (haute valeur prédictive négative (VPN)). En cas de résultat positif (40% de la population sont porteurs de HLA DQ2 ou DQ8), il faut compléter les investigations par un taux d'anticorps anti-tTG. Si celui-ci revient positif, il est nécessaire de compléter les investigations par un examen endoscopique et une biopsie. S'il revient négatif (en l'absence d'un déficit en IgA), le diagnostic de maladie cœliaque peut raisonnablement être écarté.

Il convient de souligner que la maladie cœliaque peut être associée à une carence en IgA (2% des personnes ayant une maladie cœliaque ont un déficit en IgA). Dans ce contexte, il est recommandé de doser le taux d'IgA en même temps que les anticorps anti-tTG afin d'éviter des résultats faussement bas d'anticorps anti-tTG. En cas de carence en IgA (problème relativement fréquent: un sujet sur 500, c'est-à-dire 0,2% de la population), il est conseillé de réaliser un dosage des anticorps anti-tTG IgG. Si le test est positif, compléter alors par un bilan endoscopique. De rares faux positifs ont été décrits chez des patients atteints d'hépatopathie et/ou d'augmentation massive des IgA circulantes (stéatose et cirrhose hépatiques). Jusqu'à présent, il n'existe pas de preuve scientifique suffisante pour effectuer un dépistage systématique de la population générale. De plus, le risque de complications à long terme des patients asymptomatiques n'est pas clair. En cas d'anticorps anti-tTG et de biopsie négatifs, mais en présence de symptômes digestifs ou de lésions histologiques non spécifiques de la maladie cœliaque, il faut penser à un autre diagnostic (maladie inflammatoire de l'intestin, gastroentérite à éosinophiles, notamment).

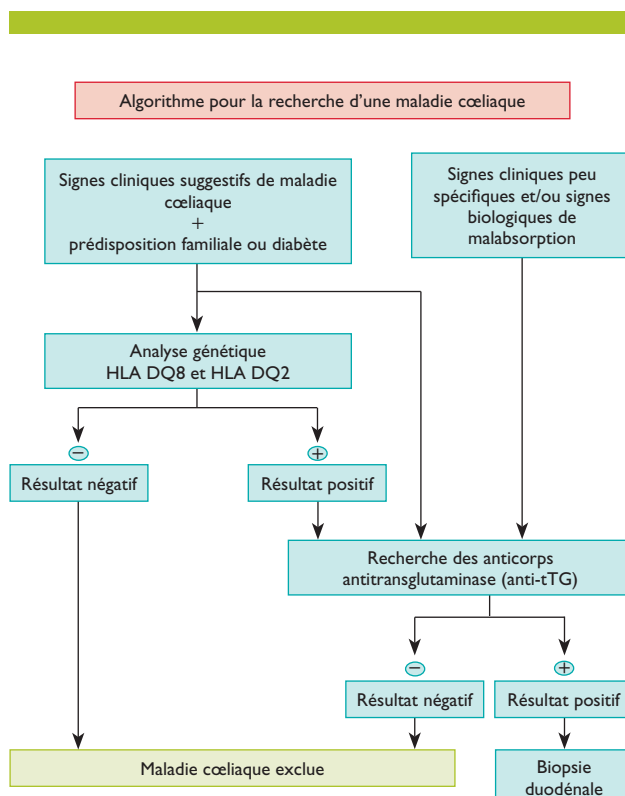


Figure 3. Algorithme diagnostique lors de suspicion de maladie cœliaque

(Extrapolée des réf. 6,7).

Anti-tTG: anticorps antitransglutaminase tissulaire.

Monitoring de la maladie cœliaque

Le titre d'anticorps spécifiques (anti-tTG) est corrélé à l'ampleur des altérations histologiques. Plus le titre est élevé, plus l'atrophie villositaire est importante. Suite à un régime sans gluten, une normalisation du taux d'anticorps est observée en l'espace de trois à six mois. Ce paramètre peut donc être utilisé pour surveiller l'observance diététique, composante essentielle pour le suivi. Les modalités de suivi dépendent de la sévérité de la malabsorption et des anomalies histologiques initiales. Un suivi sérologique est préconisé une fois par année. Dans les cas sévères, il est fortement conseillé d'effectuer un contrôle endoscopique avec biopsies après quatre à six mois.⁶

Au chapitre des nouveautés, mentionnons encore un test rapide pour la détection des anticorps anti-tTG, qui surfe sur la vague des POCT (*point of care testing*, test au lit du patient). Nous pouvons déjà en retrouver un exemplaire sur le marché, connu sous le nom de Simtomax, développé par Augurix Diagnostics. Une étude prospective récente, italienne,⁸ a évalué l'utilité d'un test rapide (autre que le



test susmentionné) pour la détection rapide des anticorps anti-tTG (IgA anti-tTG) dans le suivi des patients avec une maladie coéliquaie. Les auteurs montrent qu'il pourrait avoir sa place dans le monitoring de la maladie coéliquaie: il est simple à effectuer (goutte de sang capillaire au bout du doigt), peut se faire en ambulatoire et n'est pas cher. Il semble avoir une bonne sensibilité (84,4%) et une très bonne spécificité (98,5%) comparées au test standard par ELISA. Cependant, vu son manque de sensibilité par rapport à un test classique, le test rapide est à risque de produire des résultats faussement négatifs. Dès lors, si ce test simple et rapide apparaît fort utile dans l'évaluation du respect de la diète sans gluten au domicile du patient (notamment pour les enfants), il pourrait néanmoins ne pas détecter de petits écarts alimentaires.⁸ D'autres études sont donc nécessaires avant de pouvoir conclure à une large utilisation de ce test.

FACTEUR RHUMATOÏDE (FR), ANTI-CCP ET POLYARTHRITE RHUMATOÏDE

Polyarthrite rhumatoïde

La polyarthrite rhumatoïde (PR) est une connectivite faisant partie des maladies auto-immunes les plus fréquentes en Suisse, avec une prévalence de près de 1% (environ 70 000 patients). La maladie est essentiellement articulaire mais peut être aussi systémique. L'atteinte inflammatoire au niveau synovial mène à des érosions osseuses et à une destruction articulaire (surtout des petites articulations des mains et des pieds) susceptibles d'entraîner un handicap fonctionnel important. Le diagnostic rapide de cette maladie et l'identification des cas à mauvais pronostic jouent donc un rôle déterminant dans la prise en charge des patients, l'objectif étant de commencer un traitement de fond avant l'apparition de lésions osseuses et articulaires irréversibles.⁹

Diagnostic de la polyarthrite rhumatoïde

Le diagnostic de PR est établi selon les critères de classification de l'ACR (tableau 7) qui se basent sur des observations cliniques et biologiques. Cependant, en pratique, les critères ACR ne sont pas toujours remplis, notamment au stade initial de la maladie. C'est pourquoi, l'utilisation de biomarqueurs précoces et spécifiques (FR et anticorps anti-CCP) peut aider le clinicien pour le diagnostic de PR.⁹⁻¹¹

Biomarqueurs dans la polyarthrite rhumatoïde

De très nombreux anticorps ont été décrits durant les 40 dernières années concernant la PR. Actuellement, nous connaissons deux biomarqueurs qui jouent un rôle primordial dans le diagnostic de l'arthrite rhumatoïde: le FR et les anticorps anti-CCP. Ce dernier a récemment été inclus dans les critères ACR (tableau 7). Si la sensibilité de ces deux biomarqueurs est comparable (de l'ordre de 75%), la spécificité de l'anticorps anti-CCP est supérieure (90-95%). La combinaison des deux biomarqueurs (FR + anticorps anti-CCP) montre une VPP proche de 100% (plus élevée que la VPP de chacun de ces deux biomarqueurs pris séparément).¹² Il est donc conseillé de rechercher les deux marqueurs en parallèle.

Tableau 7. Critères de classification de la polyarthrite rhumatoïde

Selon l'American College of Rheumatology (ACR) et l'European League Against Rheumatism (EULAR), révisés en 2010.

Articulations touchées (0-5)	Score
1 grosse articulation	0
2-10 grosses articulations	1
1-3 petites articulations (grosses non comptées)	2
4-10 petites articulations (grosses non comptées)	3
> 10 articulations (au moins une petite articulation)	5
Tests sérologiques (0-3)	
FR négatif ET anti-CCP négatif	0
FR faible OU anti-CCP à faible titre	2
FR élevé (> 3 x seuil) OU anti-CCP à titre élevé	3
Durée des symptômes (0-1)	
< 6 semaines	0
> 6 semaines	1
Paramètres inflammatoires (0-1)	
CRP normale ET VS normale	0
CRP anormale OU VS anormale	1
<p>Score ≥ 6 est défini comme polyarthrite rhumatoïde. Score < 6 est défini comme polyarthrite probable, surtout si anti-CCP positif. Petites articulations: MCP, IPP, articulations de la base des orteils 2-5 (MTP 2-5), articulation de la base du pouce (MCP 1) et poignet, articulation temporo-mandibulaire, sterno- et acromio-claviculaire. Grosses articulations: épaule, coude, hanche, genou, cheville. FR: facteur rhumatoïde; CRP: protéine C-réactive; anti-CCP: anticorps antipeptide cyclique citrulliné; VS: vitesse de sédimentation; MCP: articulation métacarpo-phalangienne; IPP: articulation interphalangienne.</p>	

Facteur rhumatoïde

Les FR (FR-IgA, FR-IgM et FR-IgG) – communément dénommés «le facteur rhumatoïde» – constituent une famille d'anticorps anti-IgG qui ont en commun de réagir tous avec les déterminants antigéniques présents sur la partie Fc des IgG. Comme tous les anticorps, ils sont produits par des cellules de la lignée lymphoplasmocytaire localisées dans les ganglions ou la rate, mais également dans la membrane synoviale. Il s'agit d'une situation unique où l'anticorps et l'antigène avec lequel il réagit sont de la même classe des protéines plasmatiques, les immunoglobulines.

Auparavant, il existait deux techniques de laboratoire utilisées dans la détection des FR: le test au latex et la réaction de Waaler-Rose. Cependant, en raison de leur faible sensibilité et de faux positifs fréquents, ces deux techniques ont été abandonnées au profit de la néphélométrie ou de l'ELISA. Au CHUV, le laboratoire d'immunologie utilise la néphélométrie qui permet de détecter simultanément les FR-IgA, FR-IgM et FR-IgG.

Le FR joue un rôle capital dans le diagnostic de la PR car il est positif chez une grande partie des patients (sensibilité 60-80%).¹¹ Cependant, la spécificité de ce biomarqueur est limitée car il est souvent positif dans d'autres pathologies inflammatoires (tableau 8), en présence d'une infection et même chez certaines personnes en bonne santé, en par-



Tableau 8. Prévalence (en %) du facteur rhumatoïde et des anticorps anti-CCP dans la polyarthrite rhumatoïde et d'autres maladies auto-immunes

(Adapté des réf.^{8,10,11}).

Anti-CCP: anticorps antipeptide cyclique citrulliné.

Maladies	Facteur rhumatoïde	Anticorps anti-CCP
Polyarthrite rhumatoïde	70-90	70
Sclérodermie	20-30	3 (anti-CCP1)
Syndrome de Sjögren	75-95	1 (anti-CCP1)
Dermatomyosite/polymyosite	5-10	0 (anti-CCP1)
Cryoglobulinémie	40-100	0 (anti-CCP2)
Lupus érythémateux systémique	15-35	1 (anti-CCP1)

ticulier les personnes âgées. De plus, il est souvent absent au début de la maladie et se positive seulement après six mois à deux ans d'évolution.^{9,10} Le taux de FR est corrélé à la sévérité de la maladie. Il demeure positif par la suite de façon durable, y compris sous traitement de fond, au contraire des tests biologiques de l'inflammation (protéine C-réactive, vitesse de sédimentation). De fait, un dosage répété du FR n'a pas d'intérêt dans le suivi de la maladie. Cependant, le dosage peut être répété lorsque le patient présente des symptômes sévères très évocateurs de PR malgré un premier dosage de FR négatif. On parle de PR séropositive si le FR est positif et inversement de PR séro-négative s'il est négatif.

Anticorps antipeptide cyclique citrulliné

Les anticorps anti-CCP ont été mis en évidence dans les années 2000 (tableau 8). Ils reconnaissent des épitopes citrullinés provenant de la conversion, sous l'action de l'enzyme peptidylarginine désiminase (PAD), de résidus arginine (présents dans la filaggrine) en citrulline.¹¹ Leur rôle dans la pathogénie de la PR n'est pas clair. En effet, la présence de filaggrine dans les cellules synoviales n'a jamais été démontrée. Il semble que la production d'anticorps dirigés contre les épitopes citrullinés puisse être secondaire à une réaction croisée avec la fibrine (présente dans le tissu synovial inflammatoire des patients atteints de PR) qui, elle aussi, porte des épitopes citrullinés. De plus, l'enzyme responsable de la «citrullination» pourrait être exprimée dans les cellules inflammatoires infiltrant la synoviale. Les anticorps anti-CCP sont détectés par ELISA. Diverses générations de *cyclic citrullinated peptides* (CCP) se sont succédé: CCP1, CCP2 et CCP3. Entre ces trois générations, il existe peu de différences de sensibilité et de spécificité (qui est proche des 100%). Au laboratoire d'immunologie du CHUV par exemple, c'est la troisième génération d'anticorps anti-CCP qui est mesurée par la méthode ELISA.

Les anticorps anti-CCP sont des biomarqueurs équivalents au FR en ce qui concerne la sensibilité mais la spécificité est meilleure. De plus, nous ne retrouvons que rarement une augmentation des anticorps anti-CCP dans d'autres pathologies. De ce fait, cette méthode permet une discrimination efficace entre la PR et d'autres pathologies arthritiques où généralement les anticorps anti-CCP sont négatifs mais pour lesquelles le FR est positif (rares cas de LES

avec arthrite érosive, arthropathie liée à l'hépatite C chronique, par exemple). Il est important d'ajouter que les patients souffrant d'une PR séronégative sur le plan du FR ont par contre fréquemment des anticorps anti-CCP positifs (jusqu'à 30% des cas), ce qui prouve l'indépendance entre ces deux biomarqueurs.¹¹ En présence d'anti-CCP positifs, on peut alors parler de PR séropositive (même en l'absence de FR).

La présence des anticorps anti-CCP est corrélée au degré d'activité de la maladie et au développement d'érosions osseuses.⁹ Les anticorps anti-CCP doivent être considérés à la fois comme un marqueur diagnostique et pronostique.¹² Plusieurs études ont montré que les anti-CCP sont souvent présents avant même l'apparition des symptômes de PR (jusqu'à quatorze ans).¹¹ Par conséquent, ce marqueur permet l'identification précoce de la maladie et ainsi l'introduction ciblée d'un traitement. Les taux d'anticorps anti-CCP restent relativement stables au cours du temps, y compris sous traitement de fond. De ce fait, un dosage répété de ce biomarqueur n'a pas d'intérêt dans le suivi clinique de la maladie. Cependant, comme évoqué plus haut pour le FR, le dosage peut être répété lorsque le patient présente des symptômes sévères malgré un premier dosage d'anti-CCP négatif. Il faut cependant se rappeler qu'un taux d'anticorps anti-CCP négatif (tout comme un FR négatif) n'exclut pas une PR, du fait de leur sensibilité imparfaite. Il est recommandé dans ce contexte de contrôler les anticorps anti-CCP à 3-6 mois. L'avenir dans le domaine des biomarqueurs pour le suivi de la PR sera vraisemblablement la combinaison de plusieurs paramètres cliniques et biologiques en une sorte de score d'activité propre à tenir compte des aspects très variés dans la présentation et l'évolution d'une PR.¹³

CONCLUSION

Par le biais de cet article, nous avons tenté d'apporter une aide dans l'interprétation de certains tests du laboratoire d'immunologie générale: en partant d'une suspicion clinique, le biomarqueur adapté va permettre dans la mesure du possible de confirmer (sensibilité et VPP élevées) ou d'infirmer (spécificité et VPN élevées) le diagnostic de présomption afin de progresser dans la prise en charge du patient, en vue d'adapter la thérapie et le suivi ou, au besoin, de le référer au spécialiste idoine en toute connaissance de cause! ■

Les auteurs n'ont déclaré aucun conflit d'intérêt en relation avec cet article.



Implications pratiques

- > Les *anticorps antinucléaires* (ANA) constituent un excellent test de dépistage (excellente sensibilité) lorsqu'on les associe à l'évaluation anamnestique et clinique en cas de suspicion de connectivité. En cas d'ANA positif, il faut rechercher les anticorps spécifiques à certaines connectivités à l'aide de techniques de laboratoire complémentaires, plus spécifiques. Jusqu'à présent, aucune étude n'a pu montrer l'utilité de doser les ANA pour le suivi clinique
- > Les *anticorps anticytoplasme des neutrophiles* (ANCA) constituent un excellent test de dépistage (excellente sensibilité) lors d'une suspicion de vasculite des petits vaisseaux. L'IFI (immunofluorescence indirecte) est considérée comme la méthode de premier choix pour détecter les ANCA (bonne sensibilité mais faible spécificité); il est dès lors conseillé, dans un deuxième temps, de rechercher certains des anticorps contre des antigènes spécifiques (protéinase-3 et myéloperoxydase) selon la méthode ELISA (*enzyme linked immunosorbent assay*). Les ANCA (notamment les anti-PR3) ont une valeur comme marqueur de suivi ou de récurrence de la maladie
- > Le dosage des *anticorps antitransglutaminase* (anti-tTG) est essentiel pour le diagnostic de la maladie cœliaque; il est corrélé à l'ampleur de l'atteinte histologique et permet son suivi. Le dosage concomitant des IgA totales est conseillé pour éviter un résultat faussement négatif en cas de déficit en IgA. Il faut également s'assurer que le patient n'est pas en cours de régime sans gluten
- > Dans la polyarthrite rhumatoïde (PR), il est conseillé d'effectuer le dosage en parallèle du *facteur rhumatoïde* (FR) et des *anticorps antipeptide cyclique citrulliné* (anti-CCP). L'intérêt de doser l'anti-CCP réside dans sa spécificité élevée, une capacité à diagnostiquer la PR de façon précoce et à prédire les formes les plus agressives. Il n'y a aucune indication à répéter le dosage de ces deux biomarqueurs dans le suivi clinique de la maladie. Cependant, le dosage peut être répété lorsque le patient présente des symptômes sévères malgré un premier dosage d'anti-CCP et FR négatifs

Bibliographie

- 1 Petitpierre S, Aubert V, Leimgruber A, Spertini F, Bart PA. Utilité de la recherche des autoanticorps dans la pratique quotidienne. *Rev Med Suisse* 2009;5:823-31.
- 2 * Solomon DH, Kavanaugh AJ, Schur PH, and the American College of Rheumatology ad hoc committee on immunologic testing guidelines. Evidence-based guidelines for the use of immunologic test: Antinuclear antibody testing. *Arthritis Rheum* 2002;47:434-44.
- 3 Lurati Ruiz F, Leimgruber A, Bart PA, Spertini F. Intérêt des anticorps anticytoplasme des neutrophiles (ANCA) en clinique. *Med Hyg* 2003;61:830-5.
- 4 Savige J, Davies D, Falk RJ, Jennette JC, Wiik A. Antineutrophil cytoplasmic antibodies and associated diseases: A review of the clinical and laboratory features. *Kidney Int* 2000;57:846-62.
- 5 Kaeser P, Schneider R. Dépistage d'une vasculite ou d'une collagénose: tentative de simplification. *Rev Med Suisse* 2008;4:2467-71.
- 6 Aepli P, Criblez D. Sprue/maladie cœliaque – une maladie aux multiples visages. *Forum Med Suisse* 2011; 11:907-12.
- 7 ** Leffler D. Celiac disease diagnosis and management. *JAMA* 2011;306:1582-92.
- 8 Zanchi C, Ventura A, Martellosi S, et al. Rapid anti-transglutaminase assay and patient interview for monitoring dietary compliance in celiac disease. *Scand J Gastroenterol* 2013;48:764-6.
- 9 Möller B, Boller C. Nouveaux critères de classification pour le diagnostic et le traitement précoces de la polyarthrite rhumatoïde. *Forum Med Suisse* 2012;12: 558-61.
- 10 Bas S. Utilité des anticorps antiprotéines citrullinées dans le diagnostic et le pronostic de la polyarthrite rhumatoïde. *Rev Med Suisse* 2005;1:674-86.
- 11 Bernasconi L, Schneider S, Hasler P, Huber AR. Anti-CCP: test spécifique de l'arthrite rhumatoïde. *Forum Med Suisse* 2009;9:711-3.
- 12 * Taylor P, Gartemann J, Hsieh J, Creeden J. A systematic review of serum biomarkers anti-cyclic citrullinated peptide and rheumatoid factor as test for rheumatoid arthritis. *Autoimmune Dis* 2011 article ID 815038.
- 13 Centola M, Cavet G, Shen Y, et al. Development of a multi-biomarker disease activity test for rheumatoid arthritis. *PLoS One* 2013;8:e60635.

* à lire

** à lire absolument