

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA  
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET DE L'UNIVERS  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



M/500

370-236

## Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Spécialité : Biologie cellulaire et moléculaire

Option : Immunologie Approfondie

### Thème

**Les nouvelles techniques immunologiques de détection des  
marqueurs de la polyarthrite rhumatoïde**

Présenté par : MOKHNACHE KHALIL

SEHTAL MED EL HADI

SELLAMI BADREDDINE

ZERIG IMENE

Devant le jury composé de :

President : Mr. Benouareth. DE. (Pr)

Examineur : Mme Zerguine. K (MC)

Encadreur : Mme Bendjeddou. (Pr)

Co- encadreur : Mme Meriche Gadiri.S (Dr)

université 8 mai 1945-Guelma

université 8 mai 1945-Guelma

université 8 mai 1945-Guelma

université badji-mokhtar-Annaba

Juin 2011



# Remerciements

Nous tenons à témoigner notre vive gratitude à notre encadreur, le professeur Dalila Bendjeddou pour sa disponibilité, sa compétence et son soutien tout au long de la réalisation de ce modeste travail.

Nous adressons également nos vifs remerciements à notre Co-encadreur, docteur Sabiha Gadiri pour ses conseils judicieux, son amabilité et pour avoir mis à notre disposition son laboratoire et le matériel dont il dispose.

Nous exprimons notre reconnaissance au professeur Benouareth pour avoir accepté de présider le jury et à madame Zerguine, maître de conférences, membre examinateur.

Nous remercions tout le personnel du laboratoire, pour son aide précieuse et sa disponibilité.

Que toute personne, enfin, ayant participé de près ou de loin à la mise au point de cette recherche, trouve ici le témoignage sincère de notre profonde reconnaissance, en particulier mademoiselle Nassima.

Produced with Scantopdf

La liste des abréviations

- AAN: anticorps antinucléaires  
Ac: anticorps  
ACJ: Arthrite chronique juvénile  
Ag: antigène  
AFA: anticorps antiflaggrine  
AKA: anticorps anti-kératine  
AK: anti-kératine  
AMB : Ambulatoire  
Anti-CCP: anticorps anti-peptides citrullinés  
Anti-RNP: *Anti*-ribonucleoprotein  
Anti-SSA: anti Sjogren's syndrome antigen  
Anti-SSB: anti single side band  
APF: anticorps anti-facteur périnucléaire  
APN: anti-péri nucléaires  
BCR : B cell receptor  
C : constante  
CPA : cellule présentatrice d'antigène  
CRP : C Réactive protéine  
CI: complexes immuns  
DC : cellule dendritique  
ELISA: enzyme linked immunoassay  
Fc: fragment constant  
FGF1 ET 2: Fibroblast Growth Factors 1 and 2  
FR : facteur rhumatoïde  
GF: grands enfants  
IgG: immunoglobuline G  
IL : interleukine  
IFI : immunofluorescence indirecte  
IRM : L'imagerie par résonance magnétique  
ImmunoScan RA :  
LB : lymphocyte B  
LT : lymphocyte t

LED: Lupus Erythémateux Disséminé

MI: Médecine interne

NK : naturokillo killor

NRS: Nourriouon

OMS : organisation mondial de la santé

PAD: peptidyl-argininedésiminase

PDGF: Platelet Derived Growth Factor

PR: polyarthrite rhumatoïde

PN: polynucléaires neutrophiles

SCID: severe combined immunodeficiency

SIDA : syndrome immunodéficience acquise

TCR : T cell receptor

TGF-B: Transforming Growth Factor beta

TNF: tumor necrooaa faotor

V: variable

VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor

VIH : virus d'immunodéficience immun

VS: vitesse de sedimentation

WR: waaler rose

Produced with ScanTOPDF

La liste des figures

N° de figure	Titre	N° de page
1	Les principaux organes du système immunitaire	4
2	Différenciation des cellules sanguines	5
3	Les cellules immunitaires	9
4	La structure des immunoglobulines	10
5	La réponse immunitaire	12
6	Les mécanismes de l'auto-immunité	15
7	Les causes des maladies auto-immunes	16
8	L'anatomie de l'articulation	20
9	Déformation des articulations grâce à polyarthrite rhumatoïde	21
10	les différents stades de la polyarthrite rhumatoïde	24
11	Déformation des articulations des doigts	25
12	Les articulations atteintes sont également chaudes et parfois rouges	26
13	La citrullination est un processus médié par la peptidyl-arginine-désaminase	29
14	Squeeze test au niveau des métacarpophalangiennes	31
15	Squeeze test au niveau des métatarsophalangiennes	32
16	Les godets de sérums, dilutions et réactifs du néphélomètre Behring 100	43
17	rotor, pipette et agitateur	44
18	résultat de test de WR sur plaque	50
19	Pourcentage de détection du FR par agglutination (Waalser Rose)	51
20	Pourcentage de détection d'Anti-CCP	54
21	Comparaison entre les pourcentages positifs et négatifs FR et Anti-CCP	56

Produced with

La liste des tableaux

N° tableau	Titre	N° de page
1	La Prévalence de différentes maladies auto-immunes	16
2	Positivité des réactions de détection des facteurs rhumatoïdes en dehors de la polyarthrite rhumatoïde	39
3	Dilution de l'échantillon pour le test de Waaler rose semi-quantitatif	42
4	Titre de dilution par la méthode semi quantitative	43
5	Etapes résumées du protocole du test de détection de l'Anti-CCP	48
6	Distribution de l'échantillon selon le sexe	49
7	Distribution de l'échantillon selon la tranche d'âge des patients	50
8	Résultats qualitatifs* (Waalser Rose) et quantitatifs** (Néphélométrie) du FR	51
9	Valeurs de référence	52
10	Résultats Anti-ccp des patients	53
11	Comparaison entre les résultats positifs et négatifs des marqueurs FRetAnticcp	55

Produced with ScanPDF



## Table de matière

I. Introduction.....	1,2
II. Généralités.....	3
II.1. Le système immunitaire.....	3
II.1.1. les composants du système immunitaire.....	3
II.1.1.1. Les organes Lymphoïdes.....	3
II.1.1.2. Molécules et substances de système immunitaire.....	8
II.1.2. La réponse immunitaire.....	11
II.1.2.1. L'immunité innée.....	11
II.1.2.2. L'immunité acquise.....	11
II.1.2.3. La régulation de la réponse immunitaire.....	12
II.1.2.4. Le dysfonctionnement du système immunitaire.....	12
II.1.2.4.1. Les allergies.....	13
II.1.2.4.2. Les déficits immunitaires.....	14
II.1.2.4.3. L'auto-immunité.....	14
II.2 La polyarthrite rhumatoïde et ses marqueurs.....	19
II.2.1 Définition.....	19
II.2.2. Causes de la polyarthrite rhumatoïde.....	19
II.2.3. Évolution de la polyarthrite rhumatoïde.....	20
II.2.3.1. Phase d'initiation.....	21
II.2.3.2. Phase de recrutement et inflammation.....	22
II.2.3.2.1. Rôle des cytokines.....	22
II.2.3.2.2. Rôle des lymphocytes B.....	23
II.2.3.2.3. Rôle des polynucléaires neutrophiles.....	23
II.2.3.3. Phase de la prolifération synoviale.....	23
II.2.3.4. Phase de réparation.....	23
II.2.4 Les symptômes de la polyarthrite rhumatoïde.....	25
II.2.4.1. Symptômes initiaux.....	25
II.2.4.2. Évolution des symptômes.....	26
II.2.4.3 Autres symptômes (ne touchant pas les articulations).....	26
<b>II.2.5. Les facteurs rhumatoïdes.....</b>	<b>27</b>
II.2.5.1. Les anticorps antinucléaires.....	28
II.2.5.2. Les anticorps anti-protéines citrullinées.....	28
II.2.5.2.1. Les anticorps anti-péri nucléaires.....	29
II.2.5.2.2. Les anticorps anti-kératine.....	30
II.2.5.2.3 Les anticorps anti-peptides citrullinés.....	30
II.2.6. Diagnostic.....	30

II.2.6.1. Clinique.....	31
II.2.6.2. Les examens radiographiques .....	32
II.2.6.2.1. La radiographie standard .....	32
II.2.6.2.2. L'échographie articulaire.....	32
II.2.6.2.3. L'imagerie par résonance magnétique.....	33
II.2.6.3. Les examens biologiques .....	33
II.2.6.3.1. Syndrome biologique inflammatoire.....	33
II.2.6.3.2. Syndrome biologique inflammatoire.....	33
<b>II.3. Techniques immunologiques de détection de polyarthrite rhumatoïde</b> .....	<b>34</b>
II.3.1. Les facteurs rhumatoïdes.....	34
II.3.1.1. Les techniques d'agglutination.....	34
II.3.1.1.1. La méthode de Waaler-Rose.....	34
II.3.1.1.2. Réaction de Waaler-Rose modifiées.....	35
II.3.1.1.3. Le test au Latex de Singer.....	35
II.3.1.2. Méthodes de précipitation (turbidimétrie-néphélométrie) .....	36
II.3.1.3. La méthode enzymatique Elisa .....	36
II.3.2. Méthodes de détection des anticorps anti-protéines citrullinées.....	37
II.3.3. Méthodes de détection des anticorps anti-CCP.....	38
II.3.4. Intérêt diagnostique du facteur rhumatoïde .....	38
II.3.5. Intérêt diagnostique des auto-anticorps anti-CCP.....	40
<b>III. Matériels et Méthodes</b> .....	<b>41</b>
III.1. Population cible .....	41
III.2. Le prélèvement .....	41
III.3. Recherche du facteur rhumatoïde par le test de Waaler Rose .....	41
III.3.1. Méthode qualitative.....	41
III.3.2. Méthode semi-quantitative .....	42
III.3.3.1. Interprétation des résultats .....	42
III.4. Technique de la néphélométrie .....	43
III.5. Recherche de l'anti CCP .....	44
III.5.1. Principe du test.....	44
III.5.2. Composition du kit pour 96 déterminations .....	45



III.5.3. Protocole de dosage.....	47
III.5.4. Expression des Résultats.....	48
<b>IV. Résultats et Discussion.....</b>	<b>49</b>
IV.1. Résultat du FR par technique de WR et néphélométrie.....	50
IV.2. Anti ccp.....	52

Produced with ScanTOPDF

# ***I. Introduction***

Produced with ScanTOPDF

### I. Introduction

Vivant dans un environnement hostile, rempli d'une multitude de micro-organismes qui, pour la plupart, « rêvent » de pénétrer dans notre corps, milieu idéal pour leur développement et leur reproduction. C'est pourquoi notre organisme a développé un ensemble de mécanismes complexes regroupés sous le terme de *système immunitaire*. Ce dernier est capable de reconnaître ce qui lui est étranger afin de le neutraliser et le détruire, mais sans attaquer ses propres constituants, pourtant formés par le même type de molécules. C'est la fonction d'identification et de la discrimination les éléments de l'organisme (le soi), des molécules étrangères (le non soi).

Une anomalie dans l'harmonie du fonctionnement de ce système amène les cellules à déceler faussement les cellules de son propre organisme comme étant de nature étrangère et à les combattre, ce qui provoque des maladies auto-immunes. Il existe 2 grandes catégories de maladies auto-immunes : celles qui sont limitées à un organe (maladies auto-immunes « spécifiques d'organe ») et celles qui touchent plusieurs organes successivement ou simultanément (maladies auto-immunes « systémiques »).

A ce jour, plus de 80 maladies auto-immunes ont été individualisées [1]. Les maladies auto-immunes d'organe les plus courantes sont le diabète de type I, la thyroïdite d'Hashimoto (hypothyroïdie), la maladie de Basedow (hyperthyroïdie) et la sclérose en plaques. Les pathologies auto-immunes systémiques les plus communes sont le lupus érythémateux disséminé et la polyarthrite rhumatoïde (PR). Cette dernière est considérée comme la plus fréquente des maladies rhumatismales chroniques inflammatoires de l'adulte. Etant une maladie chronique, elle peut causer des lésions permanentes et être une cause d'invalidité.

Selon les estimations, 0,7 à 1% de la population algérienne, soit près de 300 000 personnes, sont touchées par la Polyarthrite rhumatoïde avec une très nette prédilection pour les femmes (trois fois plus de femmes que d'hommes). Quatre vingt pour cent des cas de polyarthrite rhumatoïde touchent les femmes notamment, celles âgées de 35 à 55 ans et parfois moins [2].



## I. Introduction

Dans la PR les cellules du système immunitaire s'attaquent aux articulations notamment, en produisant des anticorps nocifs appelés « auto-anticorps ». Les auto-anticorps les plus prédictifs de l'apparition de la maladie un an après leur découverte dans le sérum du malade sont les anti-CCP, les facteurs rhumatoïdes et les anticorps antipérimucléaires.

La recherche de ces marqueurs est donc primordiale pour établir le diagnostic le plus rapidement possible, ce qui permet la mise en œuvre du traitement précoce. Plusieurs méthodes permettent d'évaluer ces marqueurs avec exactitude de manière à annoncer un titre précis en UI/ml : Le test au latex, La réaction de Waaler-Rose, les Méthodes néphélométriques et des méthodes immunoenzymatique de type ELISA.

Dans ce contexte, Un RF négatif n'exclut pas la PR, mais plutôt, l'arthrite est appelée « séronégatifs ». Au cours de la première année de maladie, le facteur rhumatoïde est plus susceptible d'être négative chez certains individus à convertir séropositivité au fil du temps.

De nouveaux tests sérologiques ont été développés qui teste la présence de soi-disant anti-p »péptide citrullinés (AAPC). Comme FR, ces tests sont positifs que dans une proportion (67%) de tous les cas de PR, mais sont rarement positifs si PR n'est pas présent, ce qui lui donne une spécificité de 95,8% environ[3]. Est-ce que l'ELISA anti CCP, Immunonephélométrie, immuno-turbidimétrie sont plus sensibles et donnent des résultats plus homogènes que les techniques d'agglutination ? Est-ce qu'elles permettent une meilleure standardisation des résultats ?

Pour les raisons citées ci-dessus, nous nous sommes intéressées à l'étude des nouvelles techniques immunologiques de détection des marqueurs rhumatoïdes. Pour cet effet, notre modeste travail comportait deux parties : théorique et expérimentale.

Dans la partie théorique, nous avons essayé d'exposer le système immunitaire, en évoquant des généralités sur leurs organes, cellules et molécules, et d'écrire son fonctionnement et comment des erreurs peuvent survenir sur plusieurs plans de ce système et donner naissance à des maladies auto-immunes. Et on a terminé par une synthèse portant sur la polyarthrite rhumatoïde et les marqueurs biologiques caractérisant cette maladie auto-immune.

Dans la partie expérimentale, on a présenté le matériel utilisé, les méthodes suivies et les résultats obtenus de notre travail dans le laboratoire «Service d'immunologie Sainte Thérèse- CHU Annaba "enfin cette partie est terminée par une conclusion.

## ***II. Généralités***

Produced with ScantopDF



## ***II.1. Le système immunitaire***

Produced with ScanTOPDF

## II. Généralités

### II.1. Le système immunitaire

Le système immunitaire est notre meilleur système de défense contre la maladie : il chasse les virus, attaque les champignons, tue les parasites ainsi que les cellules tumorales [3]. Le système immunitaire est même un élément essentiel à notre survie. Invisible à l'œil nu, il ne peut être identifié à un organe unique et doit assurer sa présence partout dans le corps, à toute heure du jour et de la nuit. De quoi est-il fait? Comment agit-il? C'est à ces questions que nous allons tenter de répondre.

#### II.1.1. les composants du système immunitaire

Le système immunitaire a pour fonction de protéger l'organisme des lésions causées par l'invasion de microorganismes (bactéries, virus, champignons et parasites). Cette fonction est assurée par les leucocytes et par un certain nombre des cellules accessoires. Ces cellules sont dispersées dans l'organisme, mais sont localisées préférentiellement dans les organes lymphoïdes. Elles sont particulièrement nombreuses aux sites d'entrée potentielle des pathogènes (les muqueuses des poumons et de l'intestin). Les cellules compétentes recirculent entre ces différents tissus en utilisant les circulations sanguine et lymphatique Parham (2003). Au cours de ces migrations, elles interagissent les une avec les autres afin d'organiser une réponse immune coordonnée ayant pour but d'éliminer les pathogènes ou de minimiser les dommages qu'ils peuvent induire. Cette partie du chapitre introduit le concept des cellules et des tissus du système immunitaire ainsi que des molécules. Ces dernières sont impliquées dans l'induction, l'inhibition et le contrôle des cellules et des tissus spécialisés remplissent leurs fonctions immunitaires.

##### II.1.1.1. Les organes Lymphoïdes

Les organes lymphoïdes sont des tissus organisés où les lymphocytes interagissent avec des cellules non lymphoïdes qui jouent un rôle important à la fois, pour leur maturation et pour la mise en place des réponses immunes adaptatives. D'une manière générale, on les classe en organes lymphoïdes centraux (ou primaires) dans lesquels les lymphocytes sont

formés, et en organes lymphoïdes périphériques (ou secondaires) où les réponses immunes sont engagées. *Les organes lymphoïdes centraux* sont la moelle osseuse et le thymus (figure 1) Chapel *et al.* (2004).

Les lymphocytes T et B naissent dans la moelle osseuse, mais seuls les LB y achèvent leur maturation. Les LT pour leur part, migrent vers le thymus pour y être maturés. Une fois leur maturation terminée, les deux types de lymphocytes sont libérés dans la circulation sanguine et, par cette voie, migrent vers les organes lymphoïdes périphériques. Les lymphocytes matures naïfs qui quittent les organes lymphoïdes primaires sont désormais aptes à répondre à l'antigène pour autant qu'ils le rencontrent de manière adéquate [4].

Les agents pathogènes peuvent pénétrer dans l'organisme par différentes voies et y créer des infections, mais la rencontre de l'antigène avec les lymphocytes ne se passent que dans *les organes lymphoïdes périphériques* : les ganglions lymphatiques, la rate et les tissus lymphoïdes associés aux muqueuses. Les lymphocytes vierges recirculent constamment à travers ces tissus où l'antigène est amené depuis les sites d'infection et où il est capté par des cellules spécialisés Janwey *et al.* (1997)

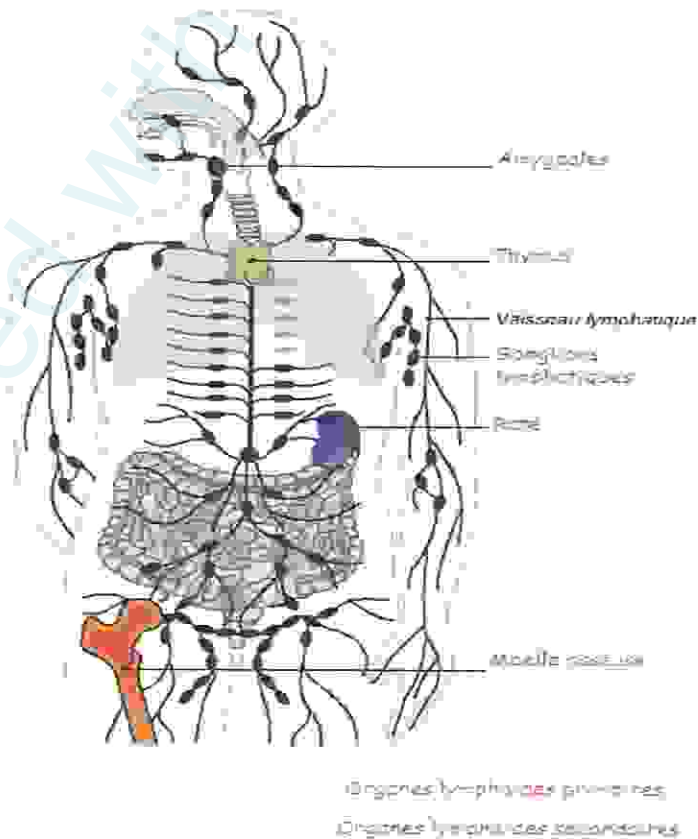


Figure 1: Les principaux organes du système immunitaire [5].



Les réponses immunes sont médiées par les leucocytes qui dérivent de précurseurs dans la moelle osseuse. Tous les éléments cellulaires du sang, y compris les globules rouges, les plaquettes et les globules blancs du système immunitaire dérivent originellement d'un même progéniteur, "La cellule souche hématopoïétique" qui donne naissance à des différents types cellulaires (se sont des cellules pluripotentes). Leurs premières descendantes ont des potentialités restreintes; elles sont les progénitrices immédiates des globules rouges, des plaquettes et des principales catégories de globules blancs Janwey *et al.* (1997).

Les cellules immunitaires (leucocytes) proviennent du *progéniteur myéloïde* et du *progéniteur lymphoïde* (figure 2). Le *progéniteur myéloïde* est le précurseur des macrophages/monocytes et des granulocytes qui interviennent dans l'immunité naturelle.

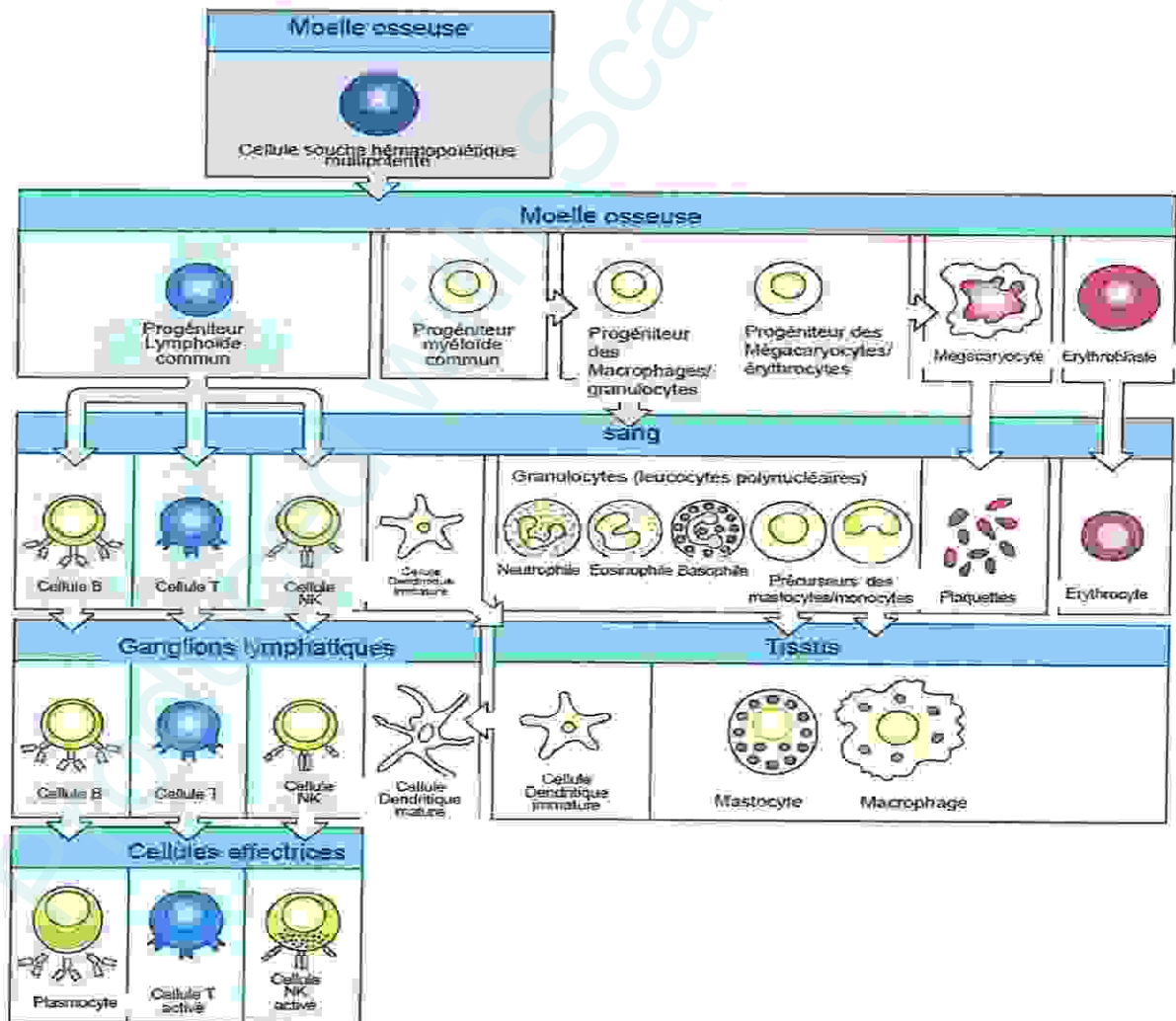


Figure 2 : Différenciation des cellules sanguines Janwey *et al.* (1997).



**Les macrophages :** sont largement présents dans les différents tissus. Ils sont originaires des globules blancs circulants appelés monocytes (figure 3-A). Les macrophages tissulaires sont des grandes cellules caractérisées par un cytoplasme abondant avec de nombreuses vacuoles qui contiennent souvent du matériel ingéré [6]. Dans l'immunité innée aussi bien que dans l'immunité adaptative, l'un des principaux rôles des macrophages consiste à phagocyter, à tuer et à digérer les micro-organismes étrangers tout en conservant certains de leurs composants chimiques antigéniques Parham (2003). Ces derniers sont alors parvenus à la surface de leur membrane afin que les lymphocytes puissent les détecter : les macrophages font partie des cellules présentatrices de l'antigène Janwey *et al.* (1997).

**Les granulocytes neutrophiles :** sont des phagocytes capables d'avalier et de digérer les agents étrangers. Comme leur nom l'indique, ils possèdent des granules qui peuvent être exocytés afin de limiter l'inflammation à l'endroit de l'infection [7] (figure 3-B).

**Les granulocytes basophiles :** attirent les autres globules blancs en déversant l'histamine contenue dans leurs granules. Cette histamine active la réaction inflammatoire et intervient également dans les réactions allergiques [7] (figure 3-C).

**Les granulocytes éosinophiles :** sécrètent des substances qui tendent à limiter l'action de l'histamine des granulocytes basophiles. Leur rôle est de s'attaquer aux parasites sans les phagocyter : ils se fixent dessus, déversent leurs granules qui contiennent des enzymes destinés à les détruire [7] (figure 3-D).

**Les cellules dendritiques :** le type cellulaire principal qui coopère avec les lymphocytes pour amorcer la réponse immunitaire adaptative est celui des cellules dendritiques. Elles ont une morphologie étoilée et se retrouvent dans des nombreux tissus, ainsi que dans le sang [6] (figure 3-E). Les cellules dendritiques (DC) sont les cellules présentatrices des antigènes les plus efficaces. Leur capacité à stimuler des cellules T allo réactives ou spécifiques d'antigènes dépasse largement celle des lymphocytes B ou des monocytes Burmester et Pezzutto (2000).

**Les mastocytes :** sont des cellules originaires de la moelle osseuse que l'on retrouve dans le tissu conjonctif (figure 3-F). Leurs granules cytoplasmiques contiennent des substances qui contribuent aux processus inflammatoires Benzair (2005).



Les cellules de la lignée lymphoïde dérivent du même précurseur : le *progéniteur lymphoïde commun*. Ces cellules sont présentes essentiellement dans le système lymphatique, d'où leur nom (les lymphocytes). Il existe trois types principaux de lymphocytes : les lymphocytes B (figure 3-G), les lymphocytes T (figure 3-H) et les cellules NK (natural killer).

**Les lymphocytes B :** comptent pour environ 10 % des lymphocytes qui circulent dans le sang. Dans l'organisme il existe de très nombreux « clones » ou populations de lymphocytes B qui se différencient par le type d'anticorps qu'ils présentent sur leur membrane Male *et al.* (2007). Lorsqu'une molécule antigénique pénètre dans l'organisme, elle a de grandes chances d'être détectée par quelques lymphocytes B qui portent des anticorps qui lui sont spécifiques. La reconnaissance de cet antigène active les lymphocytes B et se traduit par une multiplication intense de ces cellules par mitose [8]. Les Lymphocytes B obtenus se différencient alors en cellules « effectrices » : plasmocytes (lymphocytes B sécréteurs) ou en cellules « à mémoire ».

**Les plasmocytes :** ou lymphocytes B sécréteurs (grands globules blancs) sécrètent des anticorps. Un plasmocyte actif peut sécréter jusqu'à 5 000 anticorps (ou aussi appelés immunoglobulines) identiques par seconde [9]. Ces anticorps se fixent alors sur les antigènes et bloquent leur pénétration dans les cellules. Un anticorps lié à un antigène est appelé un complexe immun. Ceux-ci sont ensuite éliminés par des phagocytes.

**Les lymphocytes « à mémoire » :** sont des cellules possédant une longue durée de vie. Elles se transforment en cellules effectrices beaucoup plus vite que les lymphocytes qui n'ont jamais rencontré l'antigène, d'où leur utilité.

Il existe une population des LB dite « *L B-CD5* » caractérisée par l'expression de la molécule CD5, ces cellules produisent des anticorps appelés : « naturels » qui sont poly réactifs Male *et al.* (2007).

**Les lymphocytes T :** Les pré-thymocytes sont les précurseurs des cellules T (lymphocytes T). Au cours de leur maturation, elles commencent à migrer vers le thymus (dès la 8<sup>ème</sup> ou 9<sup>ème</sup> semaine de gestation chez l'homme) Semana (2010). On observe deux populations des LT : les lymphocytes T8 et les lymphocytes T4 qui surveillent les membranes cellulaires. En effet, une cellule infectée par un virus exprime à sa surface des fragments d'origine virale et diffère donc d'une cellule saine. C'est ainsi que les lymphocytes T détectent les cellules infectées.

**Les cellules T cytotoxiques (CD8<sup>+</sup>) :** elles jouent un rôle important dans la destruction des cellules infectées. Ces cellules fonctionnent comme des cellules tueuses ('killer' en anglais) ou cytotoxiques car elles détruisent des cellules cibles exprimant des antigènes spécifiques qu'elles reconnaissent Janwey *et al.* (1997).

**Les cellules CD4<sup>+</sup> (T-Helper) :** sont des intermédiaires de la réponse immunitaire et prolifèrent pour activer d'autres types de cellules qui agiront de manière plus directe sur la réponse. Les cellules CD4<sup>+</sup> régulent ou aident à la réalisation d'autres fonctions lymphocytaires. On sait qu'elles sont la cible de l'infection à VIH; la chute de leur population entraîne le SIDA [7].

**Les T régulateurs :** aident à prévenir l'activation des lymphocytes auto-immuns qui détruisent les cellules de leur propre organisme. Auparavant appelé « T suppresseurs », ils sont très importants pour le maintien de l'homéostasie. Le rôle principal est de réprimer l'activité des cellules de l'immunité, soit auto-immune, soit en fin de la réaction immunitaire.

**Les lymphocytes NK** sont un type de lymphocytes présentant des marqueurs de cellule T (CD3) et des marqueurs de cellules NK (fig.3-I). Ils sont capables de lyser des cellules étrangères à l'organisme de manière indépendante de l'antigène et sans activation préalable, au contraire des lymphocytes T et B. Par leur fonction de lyse, on peut les rapprocher des lymphocytes T CD8<sup>+</sup>, mais la reconnaissance de la cible des NK est très différente de celle des lymphocytes T.

### II.1.1.3. Molécules et substances de système immunitaire

Les cellules de l'immunité exercent leurs fonctions par l'intermédiaire de molécules qu'elles produisent [10]. Certaines de ces molécules sont des protéines membranaires et servent « d'agents de liaison » intercellulaires, d'autres sécrétées qui agissent dans l'environnement immédiat sur le site même de la réaction immunitaire (effets autocrine, paracrine), enfin d'autres diffusent à distance et sont des messagers de l'immunité.

**Les cytokines :** Le terme « cytokine » fut introduit en 1974 par Stanley Cohen Cavaillon (2005). Ce sont des substances solubles de communication synthétisées par les cellules du système immunitaire (les lymphocytes T) ou par d'autres cellules et/ou tissus, agissant à distance sur d'autres cellules pour en réguler l'activité et la fonction immunitaire Chapel *et al.* (2004).

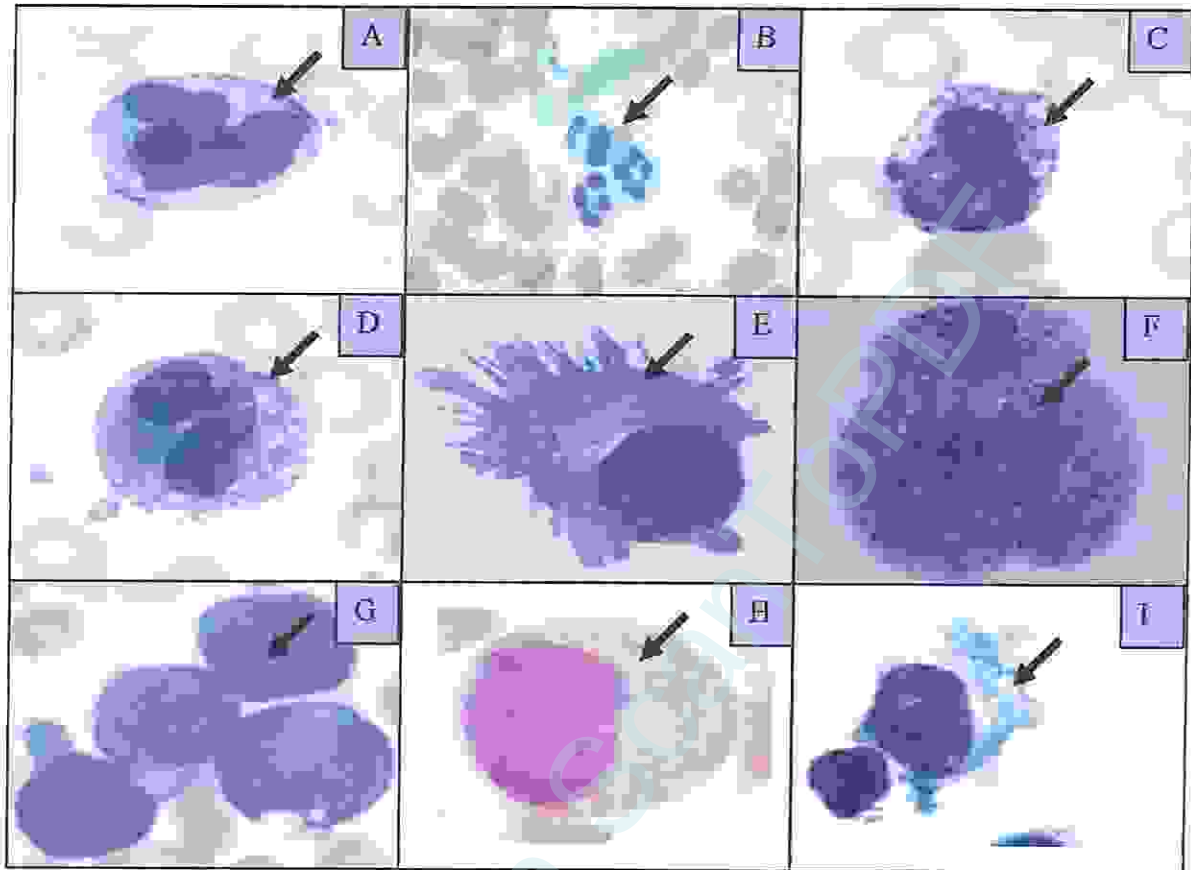


Figure 3 : les cellules immunitaires.

**Le système du complément** : est un ensemble de protéines faisant partie de l'immunité innée et spécifique en agissant par une cascade protéolytique [11]. Il participe à l'opsonisation, à la réponse inflammatoire, à l'élimination des complexes Ag-Ac et à la destruction des pathogènes Parham (2003). Ces protéines sont synthétisées par les hépatocytes, les monocytes du sang, les macrophages des tissus et les cellules épithéliales des tractus gastro-intestinal et génito-urinaire Benzair (2005).

**Les anticorps** : sont les récepteurs de l'antigène des cellules B. Ils sont exprimés à la surface de cellules B matures ou sécrétés dans le sang par les plasmocytes Burmester et Pezzutto (2000).

Les anticorps appartiennent à la superfamille des immunoglobulines, un type des gammaglobulines qu'on trouve également dans le sérum sanguin et dans d'autres liquides



(dans le liquide céphalo-rachidien) ou mucus de l'organisme [7]. Les immunoglobulines sont douées d'activité anticorps : elles représentent les agents de l'immunité humorale.

La structure de base de la molécule d'anticorps est faite de quatre chaînes (figure 4) : une paire de chaînes lourdes H (h pour *Heavy*) identiques et une paire de chaînes légères L (L pour *Light*) identiques. Chaque chaîne comporte une partie constante (C) et une partie variable (V), ces domaines ont la structure en boucle est maintenus par un pont disulfure unissant deux résidus cystéines Chapel *et al.* (2004). Grâce à leurs sites anticorps, ces molécules sont capables de se lier à des antigènes. Les anticorps ont donc pour rôle de se fixer sur les antigènes et de les rendre inertes. Ceux-ci sont neutralisés mais ne sont pas détruits. De plus, les anticorps sont spécifiques de leur antigène c'est-à-dire qu'un anticorps ne peut s'accrocher qu'à un seul antigène [12].

Les immunoglobulines peuvent elles-mêmes être reconnues comme antigènes puisqu'elles possèdent trois déterminants antigéniques différents : les déterminants isotypiques, allotypiques et idiotypiques. Les *déterminants isotypiques* correspondent aux différences entre les différentes classes d'immunoglobulines, les sous classes des chaînes lourdes et légères. Les *déterminants allotypiques* déterminent les différences entre les immunoglobulines d'un même isotype et sont surtout trouvés dans le cas des IgG. Les *déterminants idiotypiques* correspondent aux déterminants individuels d'un anticorps donné Burmester et Pezzutto (2000).

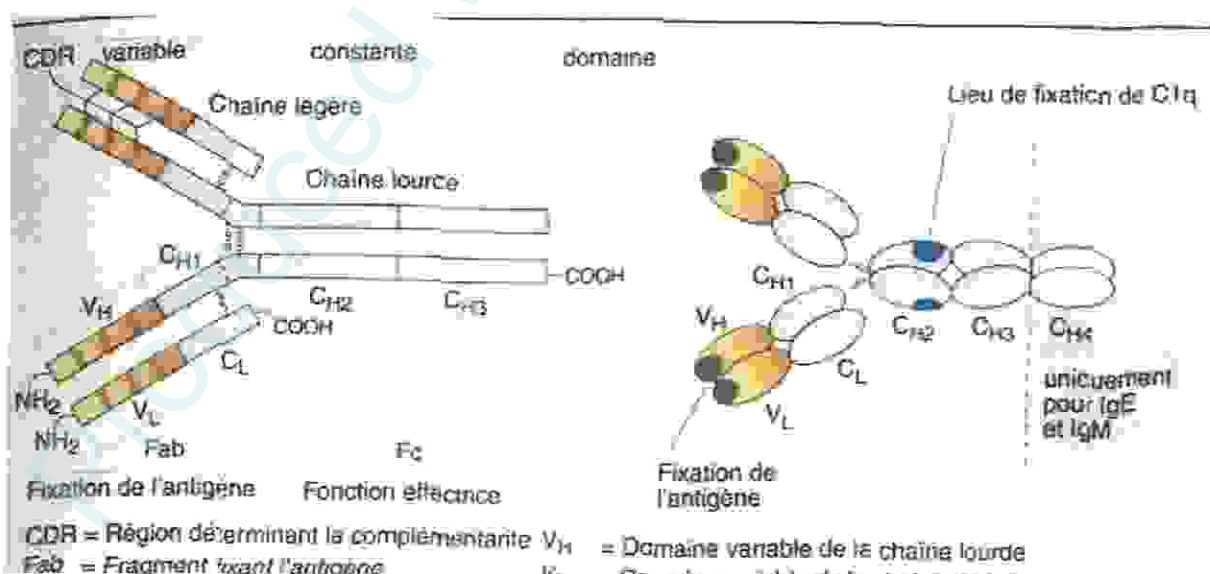


Figure 4 : la structure des immunoglobulines Burmester et Pezzutto (2000).

### II.1.2. La réponse immunitaire

La réponse immunitaire est l'activation des mécanismes du système immunitaire face à la reconnaissance du « non-soi » agressive ou pas, face à une agression (figure 5) ou à un dysfonctionnement de l'organisme. L'ensemble de ces systèmes (y compris la défense spécifique et non spécifique) permet la résilience immunitaire : notion qui recouvre la somme des mécanismes efficaces de défense d'un organisme vis-à-vis d'un agent pathogène.

Il existe deux grands types de réponse immunitaire : D'une part, la réponse non-spécifique, qui constitue « l'immunité innée » (nommée ainsi parce qu'elle est présente dès la naissance), agit en ne tenant pas compte de la nature du micro-organisme qu'elle combat; La Seconde, la réponse spécifique qui passe par la reconnaissance de l'agent à attaquer et la mise en mémoire de cet événement : c'est « l'immunité acquise ».

#### II.1.2. 1. L'immunité innée

Elle consiste en une série de systèmes de défense non spécifiques et représente la première barrière de défense, toujours active (ne nécessitant pas de contact préalable avec l'agent pathogène) et sans mémoire immunologique (figure 5).

#### II.1.2.2. L'immunité acquise

Pendant que l'immunité naturelle élimine les microorganismes, l'immunité spécifique se met en place par l'intermédiaire de cellules présentatrices d'antigènes (CPA). Celles-ci regroupent les cellules dendritiques, les macrophages et les lymphocytes B. Après la reconnaissance de l'antigène, les lymphocytes B et T stimulés, prolifèrent et se différencient en lymphocytes effecteurs Parham (2003) (figure 5).



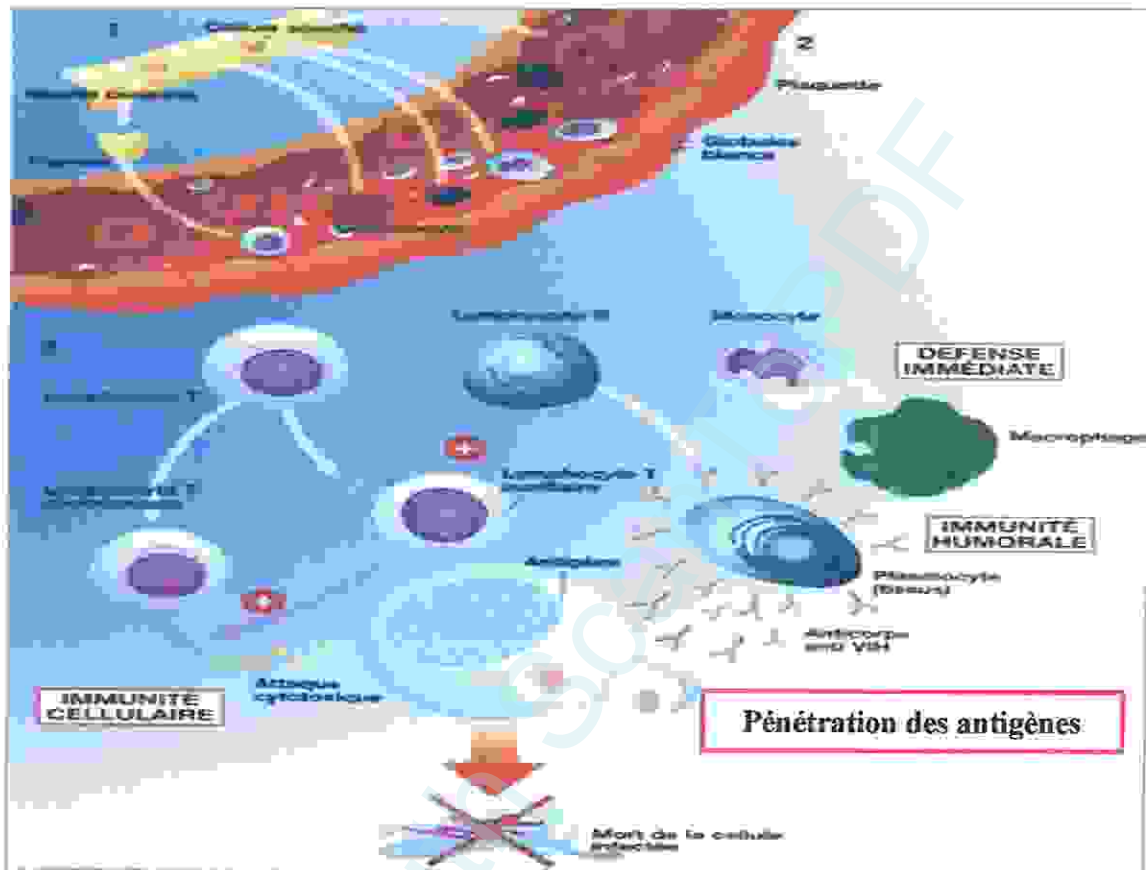


Figure 5: La réponse immunitaire [13]

### II.1.2.3. La régulation de la réponse immunitaire

A côté des facteurs solubles et des molécules de surface qui favorisent la réponse immunitaire, tels que ceux des CPA et des lymphocytes T coopérants, il existe des mécanismes inhibiteurs. En effet, lorsqu'une réponse immunitaire (humorale ou cellulaire) est déclenchée, elle a tendance à s'intensifier et à se pérenniser, s'il n'existe pas de système de régulation pour limiter son niveau et sa durée. Les effets négatifs doivent, à leur tour, être contrôlés de façon à aboutir à un état d'équilibre dynamique.

### II.1.2.4. Le dysfonctionnement du système immunitaire

Contrairement aux premiers stades de l'évolution, lorsque des cellules indépendantes exécutaient individuellement l'ensemble des activités, les organismes cellulaires avaient besoin de moins de mécanismes de protection. Au fur et à mesure qu'ils se sont regroupés entre eux pour

former des systèmes extrêmement complexes, comme l'être humain, il était nécessaire qu'ils se défendent contre les virus. Le système immunitaire est l'un des moyens les plus importants par lequel l'organisme détecte et élimine les corps étrangers Davidson et Diamond (2001).

La régulation de la réponse immunitaire est essentielle à l'organisme. Une réponse désordonnée peut aboutir à des troubles immunitaires et à des réponses inefficaces ou anormales tels que le rejet de greffe et la réponse excessive aux antigènes étrangers qui peut porter atteinte aux tissus.

On distingue schématiquement trois types de dérèglement dans la fonction immunitaire :

- Si la réponse du système immunitaire est excessive, elle provoque une réaction d'hypersensibilité, qui varie selon son mécanisme (hypersensibilité de type I à IV) [14]; celle-ci est à l'origine de nombreuses manifestations telles que l'asthme, l'urticaire, l'œdème de Quincke, etc.

- Lorsque la réponse du système immunitaire est insuffisante, on parle de déficit immunitaire. Ces déficiences peuvent être innées et rares (agammaglobulinémie congénitale) ou acquises et fréquentes (dénutrition, sida).

- Enfin, la réponse du système immunitaire peut se dérouler de façon anormale en se retournant contre l'individu lui-même, comme dans les maladies auto-immunes (thyroïdite de Hashimoto, lupus érythémateux disséminé).

Les maladies auto-immunes sont fréquentes. Il est pourtant possible de traiter les symptômes de ces maladies, mais elles demeurent incurables comme beaucoup d'autres maladies causant des désagréments, mais qui ne sont toutefois pas dangereuses pour la santé à court terme Davidson et Diamond (2001).

#### II.1.2.4.1. Les allergies

Certaines maladies résultent d'une réaction trop vive du système immunitaire. Nombreuses sont les personnes qui éternuent chaque printemps lorsqu'elles passent sous un marronnier, ou qui ont de l'urticaire après avoir goûté les premières fraises... Chez ces personnes, à la suite d'un premier contact avec un antigène (le pollen des fleurs, par exemple), s'est développée une réaction immunitaire particulière, fondée sur la production d'une classe particulière d'immunoglobulines, les IgE.

Or, certaines cellules de l'organisme (les mastocytes ou les polynucléaires basophiles) qui possèdent des récepteurs pour les IgE sont remplies de granules contenant des substances

extrêmement actives pour la contraction des muscles lisses, notamment l'histamine. Lors d'un premier contact avec l'antigène qui sera à l'origine de l'allergie – qu'on appelle alors allergène – des quantités importantes d'IgE sont produites, qui se fixent sur les récepteurs des mastocytes et des basophiles. Lorsque l'organisme est à nouveau exposé à l'allergène, celui-ci se fixe sur les IgE accrochées aux récepteurs de ces cellules. Cela déclenche le relâchement par ces dernières de leurs granules d'histamine. C'est l'histamine libérée dans les tissus qui est à l'origine des symptômes des allergies Janeway *et al.* (1997).

#### II.1.2.4.2. Les déficits immunitaires

À l'opposé des réactions hypersensibilité, il peut apparaître des déficits immunitaires. Dans ce cas, le système immunitaire fonctionne moins bien (on parle d'*immunodépression*), et l'organisme devient sensible à de nombreux agents pathogènes, bénins chez les personnes dont le système immunitaire est opérationnel. Ce déficit peut être dû, par exemple, à un défaut de l'expression de certaines molécules d'histocompatibilité, ou à un nombre insuffisant de telle ou telle catégorie de globules blancs. L'infection par le VIH, le virus du sida, provoque ainsi une immunodépression due à la destruction des lymphocytes T-CD4. Certains médicaments peuvent aussi induire un déficit immunitaire.

Lors des greffes, les médecins recherchent une moindre activité du système immunitaire, de façon à limiter le risque de rejet de greffe : on parle de traitements immunosuppresseurs Janeway *et al.* (1997).

#### II.1.2.4.3. L'auto-immunité

L'auto-immunité est la rupture des mécanismes de tolérance qui conduit à l'action pathogène du système immunitaire vis à vis de constituants naturels de l'organisme et à l'apparition d'une maladie dite auto-immune [14]. C'est aussi la perte de la capacité de distinguer le soi du non-soi par plusieurs mécanismes représentés dans la figure 6.

Les maladies auto-immunes peuvent survenir dans un seul organe (auto-anticorps dirigés contre le cerveau ou la thyroïde) ou être générale (auto-anticorps différents et multiples) [8]. Elles surviennent souvent chez des sujets âgés puisque la fréquence des auto-anticorps augmente avec l'âge et leur présence n'est pas synonyme de maladie et doit - pour être significative - être associée à des signes cliniques. Toutefois, leur découverte peut nécessiter un complément de bilan et - pour le moins - une surveillance car certains



auto-anticorps sont prédictifs de pathologies [15]. On estime leur prévalence globale aux alentours de 5%, la prévalence du lupus érythémateux disséminé à 1/1000, de la sclérose en plaques à 0.1/1000 et de la polyarthrite rhumatoïde à 8 /1000 [16] (Tableau 1).

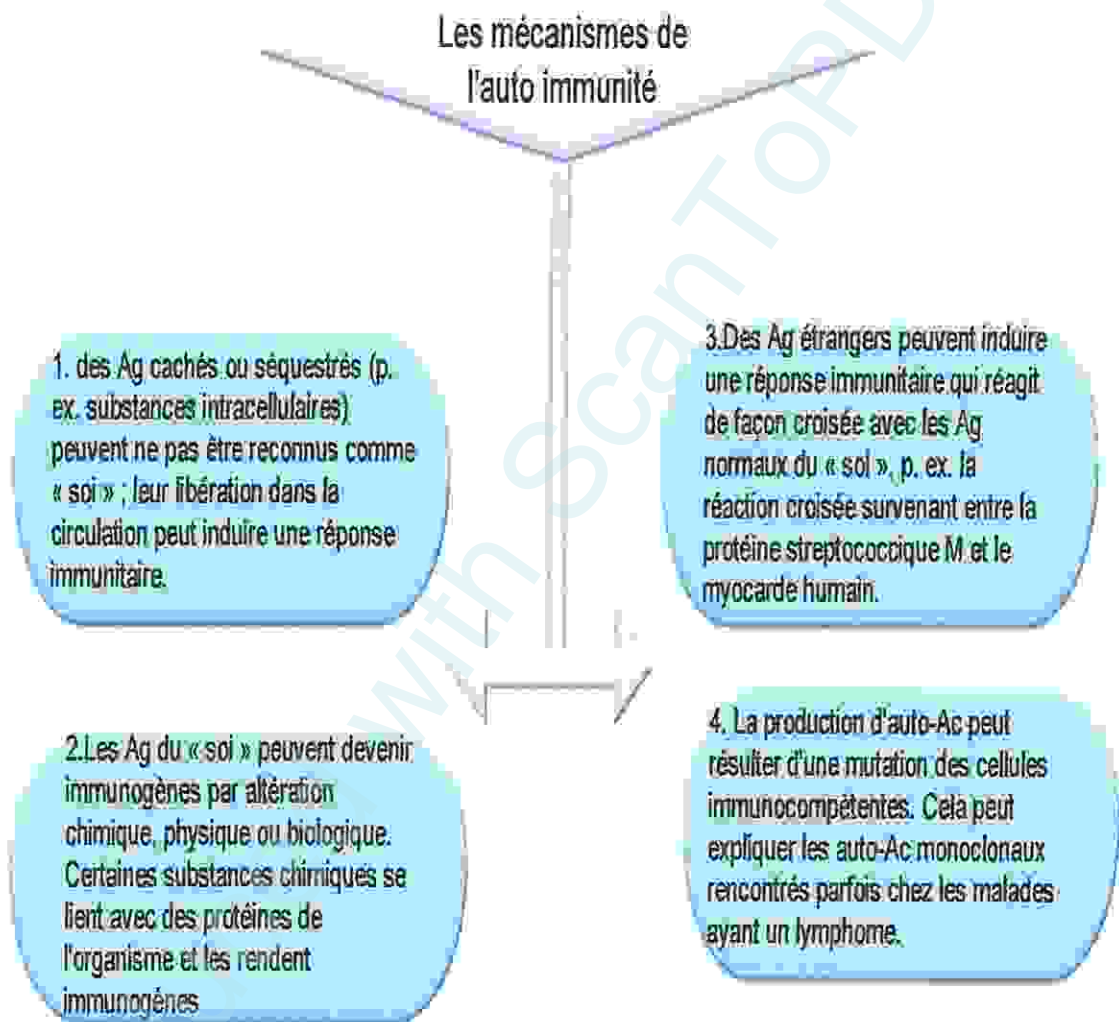


Figure 6: Les mécanismes de l'auto-immunité

Tableau (1) : La Prévalence de différentes maladies auto-immunes [16]

Diabète de type 1	200 à 400
Lupus	100
<b>Polyarthrite rhumatoïde</b>	<b>800</b>
Sclérose en plaque	10
Thyroidite	1000
Maladie de Basedow	200-1000
Vitiligo	400
Polymyosites	< 10
Dermatomyosites	
Myasthénie	

**Les causes de l'auto immunité :** Il n'existe pas de gène unique ou de pathogène environnemental entraînant systématiquement une maladie auto-immune. Une constellation de susceptibilité génétique et d'exposition à des substances chimiques connues et encore méconnues mène à un processus immunitaire, processus qui se manifeste en retour sous la forme d'une maladie auto-immune une fois que l'équilibre des forces du corps (homéostasie) est perturbé (figure7).

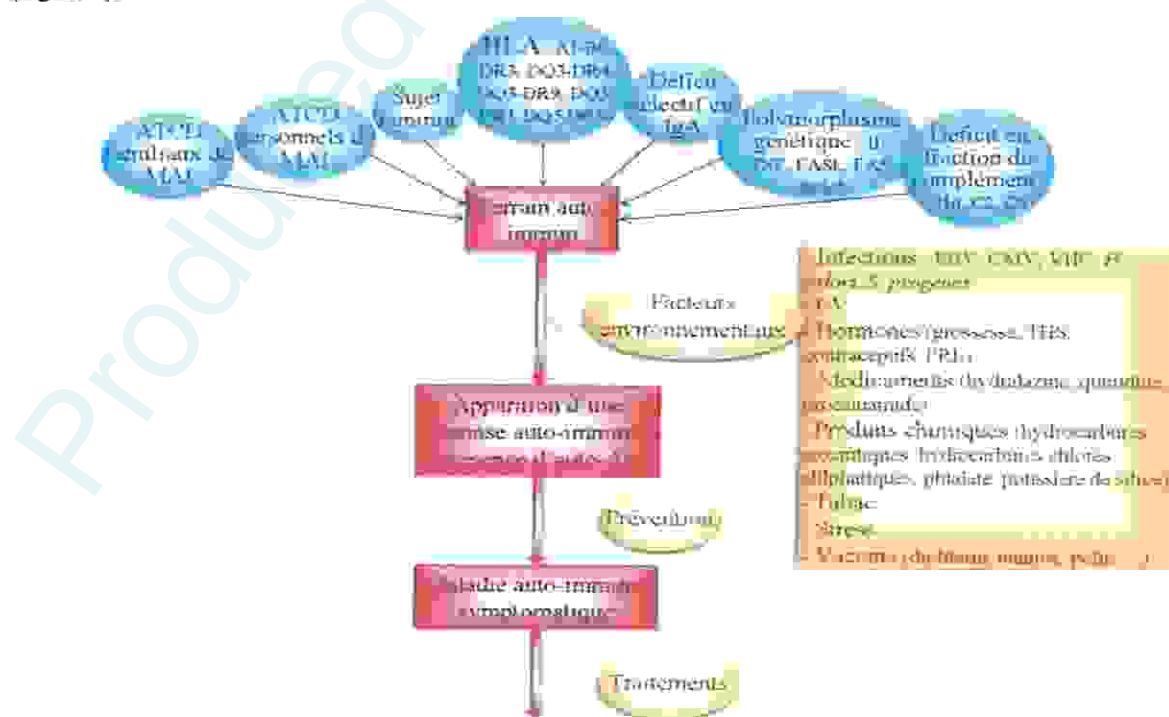


Figure 7 : les causes des maladies auto immune [17]



**L'auto immunité physiologique :** Les lymphocytes B et les lymphocytes T sont programmés pour reconnaître spécifiquement des antigènes par un récepteur spécifique (BCR pour les lymphocytes B, TCR pour les lymphocytes T) Humbel (1999). En théorie, compte tenu des réarrangements des différents gènes des BCR ou des TCR, le répertoire immunitaire est formé de 10<sup>15</sup> récepteurs [14]. Cette grande richesse de répertoire explique que de nombreux récepteurs peuvent répondre et reconnaître des antigènes propres ou identiques à des molécules de l'organisme qui sont appelés des antigènes du soi.

Différents mécanismes de tolérance permettent au système immunitaire de se protéger contre ces clones auto-réactifs, de les éliminer ou de les inactiver mais malheureusement, le système de régulation de cette auto-immunité peut être défaillant. Apparaît alors une auto-immunité pathologique, auto-agressive, qui va aboutir au déclenchement d'une maladie auto-immune, soit par la prolifération de lymphocytes B auto-agressifs, soit par la prolifération de lymphocytes T auto-agressifs de forte affinité. Deux composantes, humorale et cellulaire, caractérisent cette réaction immunitaire :

- Au plan humoral, le rôle pathogène concerne la formation de complexes immuns (CI). En effet, les plasmocytes sécrètent de grandes quantités d'immunoglobulines qui en se liant à l'auto antigène vont favoriser l'apparition de CI. Ces complexes immuns, sont responsables par leur dépôt, des phénomènes d'inflammation. La fixation du complément sur les CI va jouer un rôle dans la genèse des lésions tissulaires. La phagocytose des CI par les polynucléaires libère des enzymes lysosomiales diverses, des radicaux libres, des dérivés de l'acide arachidonique qui participent aux phénomènes inflammatoires. Ces différents effecteurs sont également soupçonnés de favoriser les destructions tissulaires qui caractérisent les maladies auto immunes [18].

- Une réaction immunitaire à médiation cellulaire intervient aussi très probablement dans l'inflammation et la constitution des lésions cellulaires. La sécrétion de diverses cytokines d'origine macrophagique a été mise en évidence dans la plupart des maladies auto immunes. Ces cytokines pourraient être responsables de l'hypertrophie tissulaire

**Les auto-anticorps :** les lymphocytes T cytotoxiques (LT CD8) peuvent induire des lésions cellulaires par différents mécanismes de cyto-toxicité (exocytose de molécules cytotoxiques, induction de l'apoptose de la cellule cible, etc.), ainsi que l'activation des lymphocytes B productrice d'auto anticorps. Ces derniers peuvent avoir un rôle pathogène par différents mécanismes : la cyto-toxicité en présence du complément lors, par exemple, des anémies hémolytiques, le dépôt de complexes immuns, par exemple dans les néphropathies

glomérulaires des lupus, aussi elles interférant avec des récepteurs cellulaires (exemple: auto-anticorps antirécepteur de l'acétylcholine lors de la myasthénie) et avec différentes structures cellulaires (par exemple, anticorps anti-phospholipides ou anti périnucléaires (APN) lors de la PR)[14]. La prévalence de certains auto-anticorps (anticorps antinucléaires et facteurs rhumatoïdes, par exemple) augmente avec l'âge, en particulier après 65 ans et On distingue schématiquement 5 catégories d'auto-anticorps utiles pour le diagnostic des maladies auto-immunes [19].

- **les anticorps antinucléaires** : ils sont des marqueurs des maladies auto-immunes non spécifiques d'organe comme le lupus.
- **les anticorps anti tissus ou anti cellules** : ce sont des marqueurs des maladies auto-immunes spécifiques d'organe.
- **les anticorps anti-IgG** : par définition, il s'agit des facteurs rhumatoïdes.
- **les anticorps antiphospholipides** : ce sont les marqueurs du syndrome des antiphospholipides qui peut être primitif ou secondaire.
- **les anticorps anti cytoplasme des polynucléaires** : ils sont dirigés contre différentes enzymes cytoplasmiques.

## ***II.2. La polyarthrite rhumatoïde et ses marqueurs***

## II.2 La polyarthrite rhumatoïde et ses marqueurs

### II.2.1. Définition

La polyarthrite rhumatoïde (PR) est une maladie inflammatoire chronique susceptible d'évoluer par poussées tout au long de la vie, créant parfois de graves déformations ou destruction articulaires. Le synovial inflammatoire est la lésion élémentaire responsable de cette destruction articulaire. C'est aussi une maladie de système qui entraîne des manifestations extra-articulaires parfois sévères et qui sont à l'origine d'une augmentation de la mortalité chez certains patients.

La polyarthrite rhumatoïde pose un problème de santé publique car c'est une affection parfois très invalidante, pouvant contraindre les malades à abandonner leur activité professionnelle. Le coût de la prise en charge de cette maladie hétérogène est variable mais il est très élevé. La polyarthrite rhumatoïde touche davantage les femmes que les hommes. Elle atteint entre 0,4 et 0,8 % de la population générale Sany (2003).

### II.2.2. Causes de la polyarthrite rhumatoïde

Les causes de cette maladie ne sont pas encore bien connues. La polyarthrite rhumatoïde est considérée comme une maladie auto-immune, car des cellules du système immunitaire s'attaquent aux articulations, notamment en produisant des anticorps nocifs appelés « auto-anticorps ». Ceux-ci, ainsi que d'autres cellules du système immunitaire, s'attaquent aux articulations plutôt que de combattre des substances étrangères au corps (par exemple, des virus).

L'hypothèse la plus probable est que la maladie se déclenche en réaction à un ensemble de facteurs génétiques, biologiques et environnementaux, en particulier le tabagisme. Ces dernières années, les progrès effectués en génétique ont permis de détecter plus de 30 facteurs génétiques impliqués dans l'apparition de la polyarthrite. Seule l'implication de certains gènes, comme le HLA-DRB1 et le PTPN22, est cependant clairement démontrée. La polyarthrite n'est toutefois pas une maladie « purement » génétique. On estime que le poids de la génétique dans le déclenchement de la polyarthrite est inférieur à 30 % [20].



### II.2.3. L'anatomie de l'articulation

Une articulation est formée de deux extrémités osseuses (les épiphyses) attachées entre elles par un manchon étanche : la capsule articulaire. Cette capsule peut s'épaissir et se renforcer par endroits ce sont les ligaments. Les épiphyses et la capsule délimitent un espace clos dénommé la cavité articulaire ainsi que. Les surfaces internes de cette cavité sont soit du cartilage, qui recouvre les os, soit la membrane synoviale, qui tapisse la capsule articulaire [20] (Figure 8).



Figure 8 : l'anatomie de l'articulation [20].

### II.2.3. Évolution de la polyarthrite rhumatoïde

L'évolution de la polyarthrite rhumatoïde est imprévisible et très variable d'une personne à l'autre. Dans la majorité des cas, la maladie s'installe insidieusement, de manière très graduelle, sur plusieurs semaines ou plusieurs mois. Cependant, il peut arriver que les symptômes surviennent soudainement ou encore qu'ils s'installent sous forme de « poussées » (de quelques jours ou quelques semaines) intercalées de périodes d'amélioration plus ou

moins longues, allant de quelques semaines à quelques années. En règle générale, la maladie a tendance à s'aggraver et à toucher de plus en plus d'articulation (Figure 9).

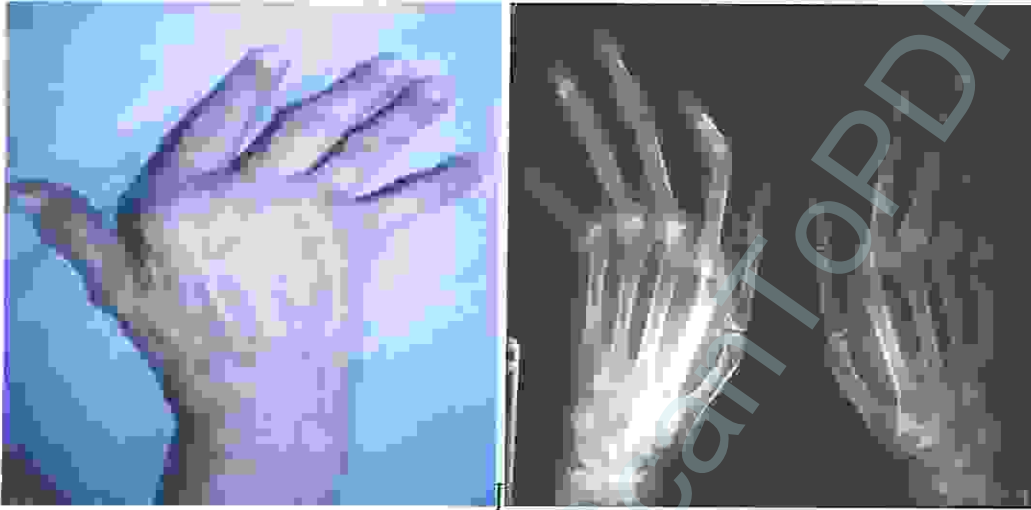


Figure 9 : Déformation des articulations grâce à polyarthrite rhumatoïde [21].

Certaines formes de polyarthrite sont très « agressives », car elles touchent aussi des organes comme le cœur, les poumons, les vaisseaux ou les reins et peuvent mettre la vie en danger. D'autres peuvent entraîner des destructions articulaires très rapides, surtout au cours des deux premières années (environ 10 % à 20 % des polyarthrites) [20].

Plusieurs phases caractérisent l'évolution de la polyarthrite rhumatoïde : initiation, recrutement cellulaire et inflammation, prolifération synoviale, destruction de l'articulation et réparation :

### II.2.3.1. Phase d'initiation

Le mécanisme de déclenchement du processus pathologique reste inconnu. Le premier événement pourrait être une réponse inflammatoire « non spécifique » en réponse à un stimulus encore non identifié, avec accumulation locale de monocytes/macrophages qui produisent des cytokines proinflammatoires comme l'IL1, le TNF- $\alpha$  et l'IL6. Les peptides antigéniques qui déclencheraient spécifiquement la PR demeurent inconnus. On tend

actuellement à incriminer des auto-antigènes situés dans l'articulation (collagène de type 2, protéoglycane, protéines de la matrice) ainsi que des peptides d'origine exogène, issus de bactéries ou de virus [22] (figure 10).

### II .2.3.2. Phase de recrutement et inflammation

La physiopathologie de la polyarthrite rhumatoïde est basée sur l'interaction entre CPA, lymphocytes T.

Le processus inflammatoire est donc initié par les macrophages. Ceux-ci contribuent ensuite au recrutement non spécifique des LT et polynucléaires sanguins, grâce à l'action de cytokines à activité chimiotactique et à l'augmentation, par le TNF- $\alpha$ , de l'expression des molécules d'adhésion sur les cellules endothéliales.

Les macrophages interagissent in situ avec les LT en leur présentant des peptides antigéniques associés aux molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH). Cette activation est ensuite amplifiée par les LT CD4+, responsables d'activations cellulaires en cascade, de la production accrue de cytokines et de molécules effectrices, amplifiant l'inflammation locale et provoquant des destructions tissulaires) [23] (figure 10).

#### II .2.3.2.1. Rôle des cytokines

Les cytokines pro-inflammatoires jouent un rôle pathogénique clef sur les processus d'inflammation, de prolifération synoviale et de destruction du cartilage. Il existe dans l'articulation rhumatoïde un déséquilibre entre les cytokines à action pro-inflammatoire, comme le TNF- $\alpha$ , l'IL1 et l'IL6, présentes en excès, et les cytokines à action anti-inflammatoire, représentées par l'IL10, l'IL4, l'IL13, les récepteurs solubles du TNF- $\alpha$  et l'antagoniste du récepteur de l'interleukine 1 (IL1-RA), qui sont présents en quantité insuffisante et ne peuvent bloquer l'action des premières. Des cytokines favorisant l'angiogénèse et la prolifération cellulaire sont également trouvées dans la membrane synoviale : TGF- $\beta$  (*Transforming Growth Factor beta*), VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*), PDGF (*Platelet Derived Growth Factor*) et FGF1 et 2 (*Fibroblast Growth Factors 1 and 2*). Cette angiogénèse est indispensable au recrutement des lymphocytes, macrophages et polynucléaires neutrophiles sanguins. Ces cytokines et leurs récepteurs sont des cibles thérapeutiques particulièrement importantes Morel *et al.* (2004) (figure 10).



#### II .2.3.2.2. Rôle des lymphocytes B

Des lymphocytes B (LB) sont activés localement par les LT CD4+. Ils se multiplient et se différencient en plasmocytes qui produisent des immunoglobulines poly clonales et du facteur rhumatoïde (FR). Ceux-ci participent au mécanisme lésionnel de la PR. Ils interviennent dans les lésions de vascularites par l'intermédiaire de dépôts de complexes immuns FR-IgG sur les parois vasculaires. Les FR à la surface des lymphocytes B présentent de façon efficace des peptides antigéniques aux lymphocytes T Bardin (2006) (figure 10).

#### II .2.3.2.3. Rôle des polynucléaires neutrophiles

L'augmentation anormale du nombre des polynucléaires neutrophiles (PN) dans le liquide synovial des sujets atteints de PR, serait due à un exsudat, lui-même favorisé par la production locale de facteurs chimiotactiques, produits de l'activation du complément et de l'activation cellulaire locale. En réponse à l'ingestion de complexes immuns et à l'activation locale par les cytokines et chémokines, les PN infiltrés dans la synoviale produisent des métabolites de l'oxygène et d'autres médiateurs de l'inflammation, dont les métabolites de l'acide arachidonique, qui renforceraient les phénomènes inflammatoires Bardin (2006) (figure 10).

#### II .2.3.3. Phase de la prolifération synoviale

Les lésions observées initialement sont dues à une atteinte microvasculaire et à un infiltrat péri vasculaire par des cellules myéloïdes, puis des lymphocytes. L'atteinte vasculaire, segmentaire ou focale, inclut des microthromboses et une néo vascularisation. On note également une hyperplasie des cellules synoviales. Le tissu synovial inflammatoire et prolifératif, ou « pannus », tend à recouvrir le cartilage articulaire et serait le siège de la production d'enzymes, responsables de la destruction du cartilage et de l'os [24].

#### II .2.3.4. Phase de réparation

La phase de réparation, responsable de la fibrose articulaire, a lieu parallèlement à la phase de destruction, mais ne compense pas le processus de destruction. Elle fait participer des facteurs de croissance et le TGF- $\beta$  [22].



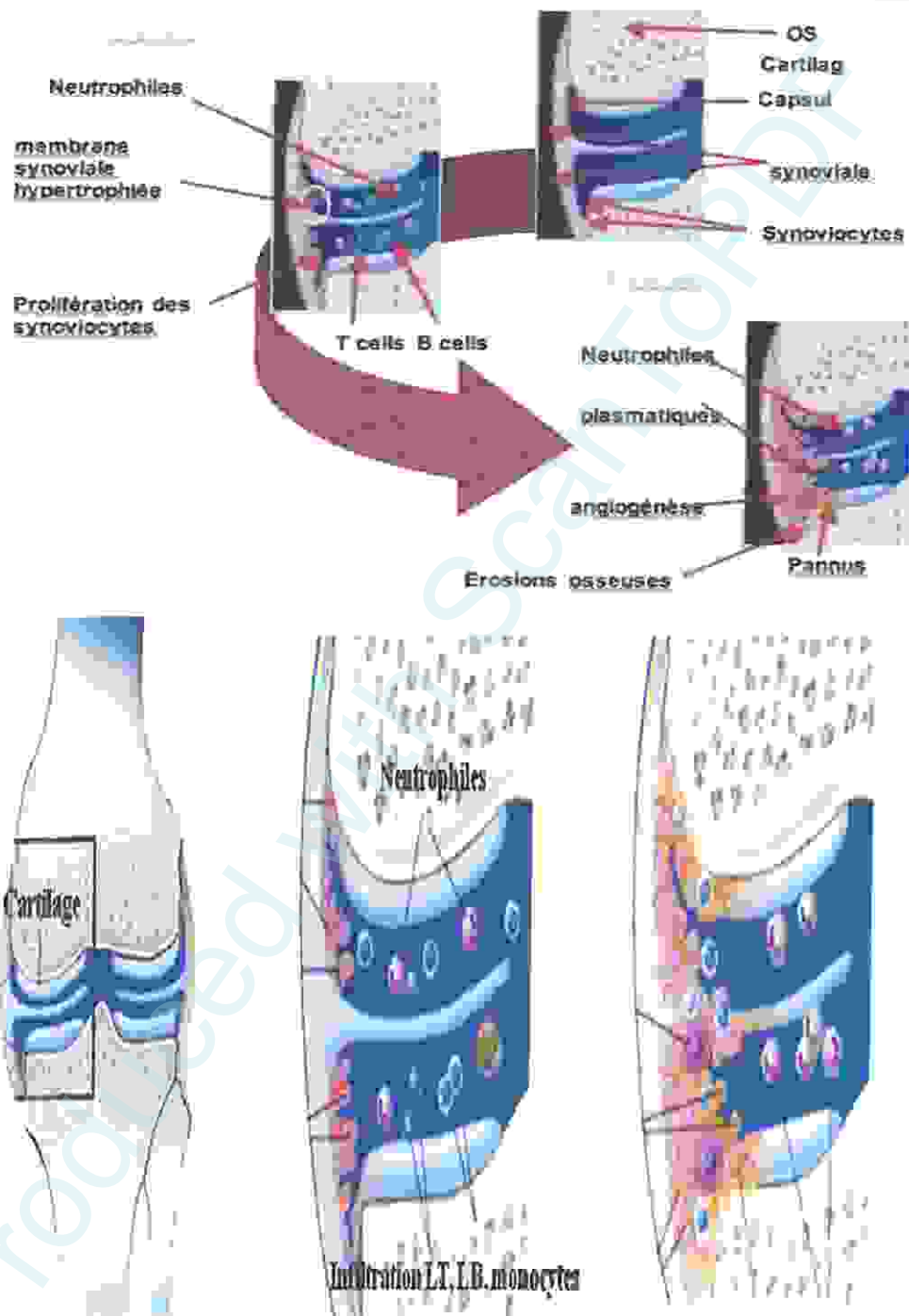


Figure 10 : Les différents stades de la polyarthrite rhumatoïde [25]

### II.2.4 Les symptômes de la polyarthrite rhumatoïde

#### II.2.4.1. Symptômes initiaux

- Le gonflement (œdème) d'une ou, le plus souvent, de plusieurs articulations. En règle générale, l'atteinte est « symétrique », c'est-à-dire que le même groupe d'articulations est touché des 2 côtés du corps. Il s'agit souvent des poignets ou des articulations des doigts, en particulier celles situées le plus près de la main (figure 11).
- Les articulations atteintes sont également chaudes et parfois rouges (figure 12).
- Des douleurs (ou une sensibilité) aux articulations atteintes. Les douleurs sont plus fortes la nuit et au petit matin, ou après une période de repos prolongé. Elles occasionnent souvent un réveil nocturne.
- Une raideur des articulations le matin, qui persiste durant au moins 30 à 60 minutes. Cette raideur s'atténue après le « dérouillage » des articulations, c'est-à-dire après les avoir bougées et « réchauffées ». Cependant, la raideur peut revenir dans la journée, après une période d'inactivité prolongée.
- Dans moins de 10 % des cas, la polyarthrite débute assez brutalement et peut s'accompagner d'une fatigue et d'une fièvre supérieure à 38,5° C.

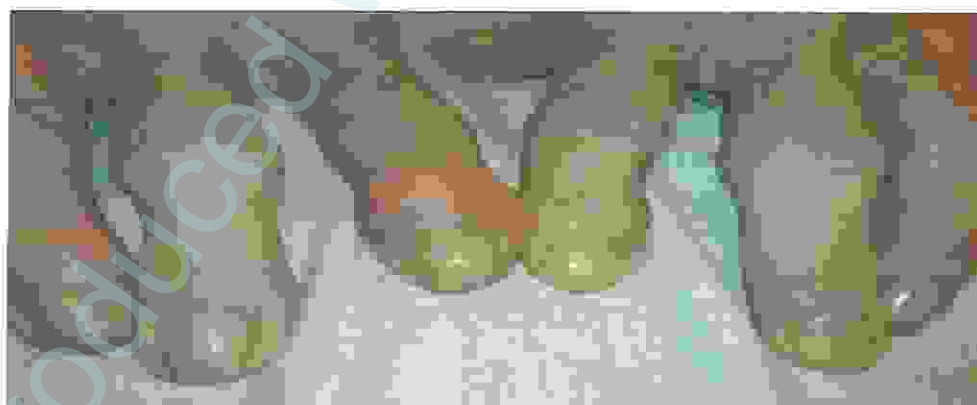


Figure 11 : déformation des articulations des doigts [21].



**Figure 12** : Les articulations atteintes sont également chaudes et parfois rouges [21].

#### II.2.4.2. Évolution des symptômes

- Plus la maladie évolue, plus il devient difficile d'utiliser ou de bouger normalement les articulations atteintes.
- De nouvelles articulations peuvent être touchées.
- De petits bosses durs (non douloureuses) peuvent se former sous la peau, surtout à l'arrière des chevilles (tendons d'Achille) et aux coudes. Il s'agit de « nodules rhumatoïdes », présents chez 10 % à 20 % des personnes atteintes.
- Chez environ un quart des malades, une fièvre légère, une grande fatigue ainsi qu'une perte de poids et d'appétit peuvent survenir (surtout lors des poussées).
- Une dépression, causée par la douleur, la chronicité de la maladie et tous les changements de vie qu'elle impose, peut survenir.

#### II.2.4.3 Autres symptômes (ne touchant pas les articulations)

Chez certaines personnes, la polyarthrite rhumatoïde peut « attaquer » divers organes en plus des articulations. Ces formes nécessitent une approche thérapeutique plus énergique.

- Une sécheresse des yeux et de la bouche (un syndrome de Gougerot-Sjögren), présente chez environ un quart des personnes atteintes.

- Une atteinte du cœur, en particulier de son enveloppe (appelée péricarde) qui n'entraîne pas toujours de symptômes.
- Une atteinte des poumons ou des reins, pouvant aussi être liée aux médicaments ou aggravée par ceux-ci.
- Une anémie inflammatoire [26].

### II.2.5. Les facteurs rhumatoïdes

Les facteurs rhumatoïdes sont des anticorps dirigés contre le fragment Fc des IgG humaines et/ou animales. Ils ont été décrits pour la première fois, en 1940 Par Waaler qui a constaté que le sérum de patients atteints de polyarthrite rhumatoïde avait la capacité d'agglutiner des hématies de mouton sensibilisées par du sérum de lapin anti-globules rouges de mouton.

Les facteurs rhumatoïdes sont extrêmement hétérogènes. Cette diversité se retrouve au niveau de la classe de ces anticorps, le plus souvent IgM, il peut cependant s'agir d'IgA voire d'IgG et il en a même été décrits de classe IgD ou IgE Sany (2003). Ils peuvent être dirigés contre des IgG humaines ou hétérosécifiques (lapin, primates non hominiens...). Ils peuvent réagir avec des Ig natives mais la réaction est plus forte avec des IgG dénaturées (agréguées par la chaleur ou fixées à un antigène). Leur cible peut être constituée de déterminants allotypiques Gm sur les chaînes lourdes des IgG et Am sur les IgA. Les séquences Gm constituent des antigènes reconnus par de nombreux FR. D'autres séquences communes à plusieurs sous-classes d'IgG (antigène Ga) constituent la cible du FR.

Au niveau moléculaire, la cible principale des FR a été localisée sur le domaine CH2 des IgG humaines et la partie CH2 et CH3 des IgG de lapin. L'épitope majeur étant constitué par une Histidine en position 435.

Certains FR peuvent s'auto-agglutiner en formant des polymères comprenant de nombreuses molécules identiques. La valence des IgM étant de 5, un FR se lie à 5 molécules d'IgG et forme donc un complexe macromoléculaire. Le FR rencontré au cours de la PR est polyclonal, de faible spécificité et de faible affinité, contrairement au FR monoclonal observé dans les maladies lymphoprolifératives malignes Carson *et al.* (1991).

Le FR n'a pas de rôle direct dans le développement de la synovite rhumatoïde. Une approche expérimentale montre que l'injection de FR ou de lymphocytes B producteurs de FR à des souris SCID n'induit pas d'arthrite chez ces animaux. Néanmoins les FR, en particulier IgG, pourraient jouer un rôle indirect dans l'inflammation synoviale en induisant la sécrétion



des cytokines pro-inflammatoires, IL1 et TNF $\gamma$  par les macrophages synoviaux. Enfin, le FR est impliqué dans certaines manifestations extra-articulaires. Il se dépose dans la paroi des vaisseaux et forme des complexes immuns de taille intermédiaire, active le complément et induit des lésions de vascularité [23].

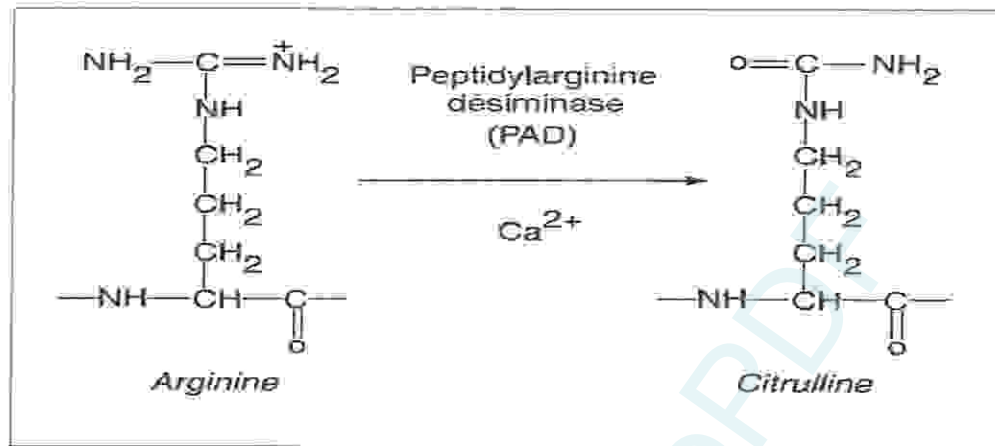
#### II.2.5.1. Les anticorps antinucléaires

Les anticorps anti-nucléaires (AAN) sont des auto-anticorps dirigés contre des déterminants antigéniques du noyau des cellules de l'organisme. Ces anticorps sont détectés au cours des maladies auto-immunes non spécifiques d'organes appelées connectivites dont la plus connue est le Lupus Erythémateux Disséminé (LED).

La recherche des anticorps antinucléaires (AAN) doit être systématique au cours de la PR au début, notamment pour éliminer une éventuelle maladie lupique. On trouve dans la PR des AAN dans 15 à 30 % des cas, à un titre généralement assez faible. Les anticorps anti-ADN natif, caractéristiques de la maladie lupique sont très rares au cours de la PR (moins de 5 % des cas par la méthode de Farr ; plus fréquents par tests ELISA qui sont plus sensibles mais moins spécifiques aux titres faibles). Les anticorps anti-antigènes nucléaires solubles (anti-RNP, anti-SSA ou anti-SSB) sont exceptionnels dans la PR sauf en cas de syndrome de chevauchement [25].

#### II.2.5.2. Les anticorps anti-protéines citrullinées

Produits dans l'articulation, au sein de la synoviale rhumatoïde, ces anticorps reconnaissent des épitopes « citrullines » qui apparaissent sur diverses protéines (filaggrine, fibrine, etc.) du tissu synovial inflammatoire par suite de la transformation de leurs résidus arginyl en résidus citrullyl. Cette « desimination » de protéines, fréquemment qualifiée de « citrullination », est une modification post-traductionnelle catalysée par une famille d'enzymes, les peptidyl-arginine désaminases (PAD) (figure 13).



**Figure 13 :** La citrullination est un processus Médie par les peptidyl-argininedésiminase (PAD) (Perrier (2006))

Il existe en fait plusieurs types d'auto-anticorps dirigés contre des séquences protéiques citrullinées : les anticorps anti-facteur périnucléaire (APF), les anticorps anti-kératine (AKA), et les anticorps anti-peptides cycliques citrullinés (anti-CCP, pour « anticyclique citrullinated peptides ») Perrier (2006).

#### II.2.5.2.1. Les anticorps anti-péri nucléaires

Les anticorps antipérinucléaires (APN) étaient détectés par immunofluorescence indirecte sur des cellules buccales humaines. Ils ont prouvé leur valeur dans le diagnostic de la polyarthrite rhumatoïde (PR). Les APN représentent des marqueurs plus sensibles (75%) mais moins spécifiques (92%) que les anticorps anti-kératine (AK) (sensibilité de 50% et spécificité de 99%). Curieusement, ces auto-anticorps, spécifiques d'une maladie de la synoviale essentiellement, sont dirigés contre des antigènes épithéliaux malpighiens. En fait, les APN et les AK font partie d'une même famille d'auto-anticorps spécifiques de la PR, les anticorps antifillaggrine (AFA). Le substrat utilisé pour la détection des anticorps anti-péri nucléaires (APN) constitue l'élément limitant la diffusion de ce test diagnostique Legoff et Saraux (2003).

### II.2.5.2.2. Les anticorps anti-kératine

Les anticorps anti-kératine (AK) ou mieux anti-stratum corneum, sont des auto-anticorps de type IgG dirigés contre une protéine filamenteuse des couches superficielles des épidermes kératinisés. Leur mise en évidence s'est faite jusqu'à présent par immunofluorescence indirecte sur coupe d'œsophage de rat. [26] [27]. Ces anticorps sont rencontrés dans 36 à 57% des PR ayant du FR de type IgM et dans 6 à 40% des PR séronégatives pour le FR. Sany (2001) ; Morel et Combe (2005). Ils peuvent être présents dès le début de la maladie, parfois même avant l'installation des troubles.

### II.2.5.2.3 Les anticorps anti-peptides citrullinés

Les anticorps anti-peptides citrullinés (ou anti-CCP) sont des anticorps de développement récent. Ils sont très intéressants pour le diagnostic précoce des polyarthrites rhumatoïdes. Lorsque ce dosage est positif, il permet de prédire avec une spécificité supérieure à 95 % le diagnostic de polyarthrite rhumatoïde mais il peut cependant être retrouvé positif dans d'autres maladies inflammatoires (par exemple chez 5 % des syndromes de Gougerot-Sjögren).

Ces anticorps ont été d'abord connus sous le terme d'anticorps anti-kératine et d'anticorps anti-périnucléaire. Il a été montré que ces auto-anticorps de type IgG pourraient être contre la filaggrine, protéine qui joue un rôle dans l'assemblage des filaments intermédiaires des kératinocytes. Ils reconnaissent également la filaggrine épidermique humaine des kératinocytes jugaux [25].

On sait maintenant que ces anticorps reconnaissent des peptides citrullinés, dont la fibrine modifiée présente dans l'articulation rhumatoïde [23].

## II.2.6. Diagnostic

Pour une meilleure efficacité des traitements, la polyarthrite rhumatoïde doit être prise en charge rapidement après l'apparition des symptômes (dans les trois à six mois après le début des symptômes). Le diagnostic doit donc être posé le plus rapidement possible. Le diagnostic d'une polyarthrite rhumatoïde débutante est difficile et se fait essentiellement à partir des symptômes observés : articulations gonflées, chaudes ou douloureuses, dérouillage matinal de plus de trente minutes, atteinte symétrique du corps, etc.

En second lieu, il est essentiel d'éliminer d'autres maladies : arthrite d'origine infectieuse, spondylarthrite, lupus, goutte, etc.

Pour confirmer le diagnostic clinique, le médecin prescrit des examens radiologiques des mains, des poignets et de toutes les articulations atteintes. Si le doute persiste, il peut prescrire des examens plus sensibles tels que l'échographie ou l'IRM pour détecter une inflammation de la membrane synoviale ou les premières érosions osseuses. Le médecin fait également pratiquer un bilan sanguin : recherche de marqueurs de l'inflammation (vitesse de sédimentation, protéine C réactive, par exemple), recherche de facteur rhumatoïde (parfois absent), recherche d'autres anticorps indiquant une maladie auto-immune, etc. Ce bilan peut être complété par un examen du liquide synovial pour rechercher des éléments caractéristiques de l'inflammation.

#### II.2.6.1. Clinique

L'examen clinique recherchera l'existence d'une synovite, d'arthrite ou une douleur des métacarpophalangiennes et/ou des métatarsophalangiennes objectivé par un Squeeze test positif (Figures 14 et 15).

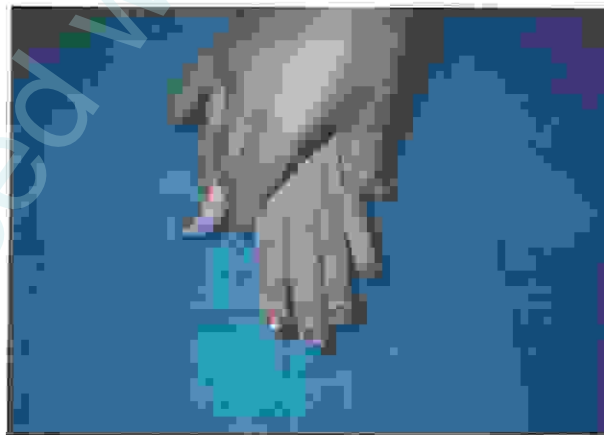


Figure 14 : Squeeze test au niveau des métacarpophalangiennes [28]





Figure 15 : Squeeze test au niveau des métatarsophalangiennes [28]

#### II.2.6.2. Les examens radiographiques

##### II.2.6.2.1. La radiographie standard

La valeur diagnostic des radiographies des mains et des pieds pour le diagnostic d'une polyarthrite rhumatoïde débutante a été très peu étudiée. Or elles font généralement partie du bilan initial réalisé devant un rhumatisme inflammatoire débutant. Les radiographies des pieds augmentent la sensibilité du critère radiographique. Cependant, vu le délai d'apparition des anomalies radiologiques, celles-ci n'auront qu'une faible valeur ajoutée en ce qui concerne le diagnostic précoce de PR. L'IRM et l'échographie semblent prometteuses mais sont en cours de validation Bezza *et al.* (2010).

##### II.2.6.2.2. L'échographie articulaire

Elle peut amener deux informations distinctes et importantes en cas d'arthrite : d'une part objectiver les synovites, d'autre part rechercher le caractère érosif de l'arthrite. A l'échelle d'une population, il a été démontré que l'échographie permet de détecter plus de synovites que l'examen clinique, et qu'elle permet de détecter plus d'érosions que la radiographie standard Guermazi *et al.* (2004).

### II.2.6.2.3. L'imagerie par résonance magnétique

Elle permet une évaluation des lésions osseuses précoces (œdèmes, géodes et érosions), une description de la synoviale inflammatoire des articulations et des gaines tendineuses, et permet de distinguer entre lésions inflammatoires actives et lésions synoviales chroniques fibreuses. Il a été montré qu'un système de graduation et/ou des méthodes d'évaluation du volume de la membrane synoviale hypertrophiée pouvaient être utiles à l'évaluation de l'activité de la maladie et de sa réponse au traitement Ostergaard *et al.* (2004).

### II.2.6.3. Les examens biologiques

#### II.2.6.3.1. Syndrome biologique inflammatoire

Il existe dans 90 % des cas, un syndrome inflammatoire non spécifique, avec augmentation de la vitesse de sédimentation globulaire (VS) et/ou de la C Réactive protéine (CRP). Dix pour cent des PR ont une VS normale mais cela n'élimine pas le diagnostic. L'électrophorèse sérique objective une augmentation des alpha-2 et, parfois, des gammaglobulines. Il existe parfois une anémie modérée, normo ou hypochrome, hyposidérémique, d'origine inflammatoire. Elle est assez bien corrélée avec l'évolutivité de la maladie articulaire. Il arrive qu'une anémie hémorragique, le plus souvent par lésion digestive chronique, se surajoute (ferritinémie basse). Dans 25 % des cas environ, on note une hyperleucocytose avec polynucléose et parfois éosinophilie. La leuco-granulopénie est plus rare, s'intégrant alors dans le cadre d'un syndrome de Felty (0,5 % des PR) voire dans le cadre d'un syndrome des grands lymphocytes granuleux. Une hyperthrombocytose est bien corrélée à l'état inflammatoire articulaire Sany (2003).

#### II.2.6.3.2. Syndrome immunologique inflammatoire

La recherche de facteurs rhumatoïdes représente un outil de diagnostic intéressant de la PR. Ces facteurs peuvent être détectés par plusieurs techniques immunologiques qui seront abordées dans le prochain chapitre.

***II.3. Les techniques  
immunologiques de  
détection de  
polyarthrite  
rhumatoïde***

### II.3. Techniques immunologiques de détection de polyarthrite rhumatoïde

L'intérêt démontré d'un traitement précoce de la polyarthrite rhumatoïde a comme corollaire le diagnostic précoce de la maladie. Si l'examen physique permet le plus souvent d'asseoir le diagnostic d'arthrite inflammatoire, seule la biologie offre la possibilité d'orienter précisément ce diagnostic.

Depuis quelques années, la recherche et le dosage de facteurs rhumatoïdes représente un outil précieux pour le diagnostic de polyarthrite rhumatoïde. Les principaux facteurs utilisables pour diagnostiquer la maladie sont les facteurs rhumatoïdes (FR), c'est-à-dire les anticorps anti-périnucléaires puis anti kératine qui se sont effectivement révélés beaucoup plus spécifiques de la polyarthrite rhumatoïde. Plus récemment, il a été mis en évidence que l'antigène cible de ces anticorps était la filagrine produisant, après l'intervention d'une enzyme spécifique, de la citrulline. L'utilisation d'une version cyclique du peptide a alors permis la mise au point d'un test Elisa pour la recherche d'anticorps anti-peptide citrique citrulliné ou anti-CCP [26].

**II.3.1. Les facteurs rhumatoïdes (FR) :** Ils sont détectables par différentes méthodes :

#### II.3.1.1. Les techniques d'agglutination

Ce sont les premières techniques décrites et toujours largement employées en routine. Elles sont basées sur l'emploi d'IgG liées à un support visible, érythrocytes ou latex. Lorsque le support est constitué d'hématies, les IgG sont des anticorps spécifiques anti-globules rouges. Lorsque le support est fait de particules de latex, les IgG sont liées de façon non spécifique. Le FR présent dans le sérum du malade se fixe spécifiquement à plusieurs IgG elles-mêmes liées au support, provoquant une réaction d'agglutination. Etant donné le principe même de ce type de méthode, seuls les FR formés d'IgM (classe d'anticorps ayant les plus fortes propriétés d'agglutination) sont détectés [27].

##### II.3.1.1.1. La méthode de Waaler-Rose

C'est la méthode de référence. Elle est sensible, spécifique et simple à mettre en œuvre et peut être applicable à des petites comme des grandes séries. Des hématies de moutons sont sensibilisées par des hémagglutinines de lapins anti-hématies de mouton et sont ensuite



incubées avec des dilutions sériées (à partir de 1/4) du sérum à étudier. Les résultats peuvent être rendus en titre correspondant à la dernière dilution pour laquelle une agglutination est observée ou mieux en unités grâce à l'utilisation du standard international de l'OMS.

Actuellement, le standard OMS de FR donne une valeur seuil de 15 UI/ml, au-dessus de laquelle un échantillon doit être considéré comme positif. Toutefois, comme pour tous les dosages d'auto-anticorps, il est souhaitable que chaque laboratoire établisse ses propres normes en déterminant une valeur seuil à partir de multiples échantillons de sérums provenant de sujets en bonne santé [28].

#### II.3.1.1.2. Réaction de Waaler-Rose modifiées

À cause des difficultés liées à l'emploi des globules rouges de mouton, des variantes de la réaction classique de Waaler-Rose ont été proposées.

Le principe global reste le même. Il s'agit toujours de disposer d'hématies recouvertes d'IgG spécifiques. Pour cela, plusieurs solutions existent : soit des hématies humaines de groupe O rhésus positif recouvertes par des IgG humaines anti-C/D, soit des hématies humaines de groupe O rhésus négatif recouvertes d'IgG de lapin anti-hématies humaines, soit des globules rouges de mouton formolés, recouverts d'IgG de lapin.

#### II.3.1.1.3. Le test au Latex de Singer

Chez les patients souffrant de polyarthrite rhumatoïde, on a détecté la présence d'une macroglobuline (Facteur Rhumatoïde) capable d'agglutiner des particules inertes sensibilisées par des gammaglobulines humaines.

Le test de l'agglutination au latex permet de distinguer l'arthrite rhumatoïde des autres maladies connues, comme en particulier la fièvre rhumatoïde pour laquelle cette macroglobuline n'est pas présente.

La cible dans ce test est constituée de particules de latex, revêtues d'IgG humaines agrégées par la chaleur. Le test est réalisé sur lame (résultat semi-quantitatif) ou en tube. Il s'agit d'un test simple, rapide, d'une bonne sensibilité (70 à 80%) mais d'une spécificité moindre que celle du test de Waaler-Rose (60%).

L'agglutination des particules de latex est facilement visible à l'œil nu. Le titre du sérum en FR correspond à la plus forte dilution où l'on observe encore une agglutination [29].

### II.3.1.2. Méthodes de précipitation (turbidimétrie-néphélométrie)

Dans ces méthodes, l'antigène est constitué soit de particules de polystyrène (latex) recouvertes d'IgG humaines et de gammaglobulines de moutons anti-gammaglobulines humaines, soit d'IgG humaines agrégées. Si le sérum à tester contient du FR, il se forme des complexes entre le FR et les IgG fixées au latex ou agrégées.

Le faisceau de lumière qui vient frapper ces complexes est dispersé. L'intensité relative de lumière dispersée est proportionnelle à la concentration en FR dans le sérum après calibration avec un standard.

La courbe d'étalonnage est effectuée par dilutions automatiques du standard de FR. Habituellement, cette courbe peut être utilisée pendant une semaine à condition que les résultats trouvés pour les contrôles internes soient corrects. Les échantillons de sérums pathologiques à tester sont dilués automatiquement, en général, au 1:20 dans un diluant approprié au matériel de mesure. Si un échantillon montre une concentration très forte de FR, on peut être amené à faire une dilution complémentaire du sérum (au 1 :100 par exemple).

Actuellement, le standard OMS de FR donne une valeur seuil de 15 UI/mL, au-dessus de laquelle un échantillon doit être considéré comme positif. Toutefois, comme pour tous les dosages d'auto-anticorps, il est souhaitable que chaque laboratoire établisse ses propres normes en déterminant une valeur seuil à partir de multiples échantillons de sérums provenant de sujets en bonne santé [30] [31].

### II.3.1.3. La méthode enzymatique Elisa (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay)

Elle présente l'avantage de détecter les trois isotypes de FR (IgA, IgG, IgM) mais elle n'est pas standardisée. On a remarqué que la positivité à plusieurs tests, synonyme de détection de plusieurs isotypes de FR spécifiques de la PR.

Des méthodes immunoenzymatiques (ELISA) sont proposées pour doser les FR de classe IgM, IgA et même IgG. Toutefois, des problèmes de standardisation existent souvent à cause de la nature même des FR. Idéalement, « l'antigène » fixé au fond de la plaque devrait être seulement des fragments Fc d'IgG ; ce qui est rarement le cas, en plus de la détection de FR de classe IgM dans un sérum. En effet, ce dernier peut se lier au fragment Fc de l'anticorps anti-IgG ou IgA.



Si bien que l'anticorps destiné à révéler la classe des FR doit obligatoirement être un fragment F(ab')<sub>2</sub>, donc totalement dépourvu de portion Fc. De plus, il faut dépolymériser les IgM du sérum pour diminuer leur fixation aux IgG.

Lorsqu'on souhaite doser uniquement les FR de classe IgM par ELISA, on peut employer un test qui combine les deux spécificités principales de l'auto-anticorps, c'est-à-dire les IgG humaines et de lapin (fragments Fc de ces IgG fixés sur des microplaques). De même l'emploi d'un anticorps monoclonal ne révélant que les IgM humaines peut augmenter la spécificité de la réaction.

Même en utilisant des fragments Fc pour sensibiliser les plaques et des fragments F(ab')<sub>2</sub> pour révéler les FR de classe IgG ou IgA, l'interprétation de ces tests reste pour le moins délicate, sans parler d'autres tests franchement fantaisistes. Une alternative (non utilisable en routine) repose sur l'isolement des FR par chromatographie d'affinité, suivi de leur caractérisation immuno-chimique.

Comme pour les dosages d'auto-anticorps, l'intérêt diagnostique du FR est basé sur la sensibilité du test, c'est-à-dire le nombre de patients ayant un test positif par rapport au nombre total de patients étudiés (positifs et négatifs).

La valeur prédictive du test, c'est-à-dire le nombre de patients ayant un test positif par rapport au nombre totale de cas positifs (patients positifs et sujets normaux positifs).

Les FR occupent une place particulière parmi les auto-anticorps. En effet, le rôle physiologique de ces auto-anticorps est actuellement très fortement suggéré, expliquant ainsi leur présence chez les sujets normaux, avec une fréquence d'autant plus grande que la technique de détection utilisée est très sensible [32] [30].

### II.3.2. Méthodes de détection des anticorps anti-protéines citrullinées

La première méthode de détection, apparue dans les années 1960, était appliquée à des cellules de muqueuse buccale. Elle visait à détecter par immunofluorescence indirecte (IFI) les granules de kératohyaline de ces cellules, mais elle s'est révélée impossible à standardiser et à l'appliquer en pratique. A la fin des années 1970, l'application de l'IFI sur des coupes du tiers moyen de l'œsophage de rat a permis le développement d'un test inscrit à la nomenclature et ayant bien diffusé en biologie clinique.

Cependant, les stratégies actuelles s'appuient sur la détection, par la méthode immuno-enzymatique Elisa des auto-anticorps dirigés contre des protéines citrullinées (filaggrine, fibrine, etc.) : plus précisément, contre des fragments particuliers de ces protéines,

les peptides citrullinés. D'un kit commercial à un autre, les résultats du test sont très variables. Ils varient en effet, selon la nature du substrat antigénique (filaggrine entière citrullinée ou peptides), sa pureté, le procédé de fixation de l'antigène, le degré de dilution du sérum appliqué sur la plaque, etc. Perrier (2006).

### II.3.3. Méthodes de détection des anticorps anti-CCP

En fait, seuls les kits à base de peptides citrullinés permettent une reconnaissance spécifique. Dans cette optique, en 1999, l'équipe de Venrooij a synthétisé plusieurs peptides dérivés d'une séquence d'acides aminés particulière de la filaggrine humaine (séquence 306-324) et possédant des degrés de citrullination différents. Un peptide cyclique a alors été sélectionné pour produire un test Elisa anti-CCP de première génération (CCP1) Schellekens *et al.* (2000). Ce test, doté d'une sensibilité de 68 % (pour une PR de plus de deux ans) et d'une spécificité de 95 %, a ensuite été commercialisé par la société Euro-Diagnostica (Arnhem, Pays-Bas) sous le nom d'ImmunoScan RA. En 2002, sont apparus des tests Elisa de deuxième génération (CCP2) qui comprenaient non plus un mais plusieurs peptides citrullinés Perrier (2006).

### II.3.4. Intérêt diagnostique du facteur rhumatoïde

Au début de la PR, la recherche du FR est classiquement souvent négative et se positiviserait secondairement. Cependant plusieurs études de cohortes récentes retrouvent une positivité élevée dès le début de la maladie. La présence d'un taux significatif de FR à ce stade est un élément de mauvais pronostic Morel et Combe (2005). Chez certains patients le FR peut être présent dans le sérum sans aucune manifestation clinique et ceci plusieurs années avant le début de la PR. Cependant on peut trouver du FR chez des sujets qui ne développeront jamais de PR.

A la phase d'état le FR est présent dans 70 à 85 % des cas, ce qui correspond aux PR dites "séropositives" par opposition aux PR "séronégatives" chez lesquelles il n'y a pas de FR décelable. Il semble qu'il y ait une certaine corrélation entre le titre de positivité du FR et la progression radiologique de la PR Morel et Combe (2005). De plus les PR graves ayant des signes extra-articulaires sont presque toujours très fortement séropositifs. Le taux de FR varie généralement peu au fil des années et il n'est pas utile de répéter sa recherche lorsque la



positivité a été confirmée. La détection des FR-IgA associée à celle des FR-IgM augmenterait la sensibilité du test sans diminuer la spécificité Jonsson *et al.* (1995).

La présence de FR est loin d'être synonyme de PR, elle n'est ni indispensable ni suffisante pour affirmer le diagnostic. La spécificité du FR varie en fonction du contexte clinique; elle est forte en présence de polyarthrite, faible en son absence. On trouve en effet du FR dans de nombreuses situations pathologiques notamment au cours de certaines connectivites et surtout du syndrome de Gougerot-Sjögren où le titre de FR est particulièrement élevé (souvent très supérieur à celui observé au cours de la PR), de maladies infectieuses (présence transitoire) et chez des sujets normaux, surtout après 65 ans tableau(2).

Certains isotypes des FR auraient un intérêt pronostic. La présence de FR IgA serait, pour certains, associée à une PR plus sévère et volontiers accompagnée de manifestations extra-articulaires (syndrome sec, nodules) Morel et Combe (2005).

**Tableau 2:** Positivité des réactions de détection des facteurs rhumatoïdes en dehors de la polyarthrite rhumatoïde (réaction de Waaler-Rose et test au latex) Combe (2009).

Cas	Pourcentage de positivité
Sujets normaux < 65 ans	1-15
Sujets normaux > 65 ans	7-30
Sujets sains parents de PR	15-20
Lupus érythémateux disséminé	25-40
Sclérodermie	20-50
Dermatomyosite	12-20
Gougerot-Sjögren	75-98
Infections bactériennes	11-20
Infections virales	14-17
Mononucléose infectieuse	4-72
Endocardite d'Osle	30-50
Tuberculose	5-15
Lépre	15-30
Syphilis	15-25
Leishmaniose	90-100
Silicose (sans PR)	15-42
Bronchite	4-18

### II.3.5. Intérêt diagnostique des auto-anticorps anti-CCP

Les anti-CCP ne sont pas pathognomoniques de la PR : ils peuvent être détectés dans d'autres pathologies, dont deux relativement fréquentes mais d'interprétation relativement difficile, d'autant qu'elles peuvent être associées à la PR : le syndrome de Gougerot-Sjogren primitif et le rhumatisme psoriasique. Des anti-CCP2 sont détectés respectivement dans 3 à 7,5 % des cas, et dans 5 à 15 % des cas.

En revanche, une forte concentration d'anti-CCP (c'est-à-dire un seuil de 50 unités au minimum) est très spécifique de la PR. Selon les auteurs, le dosage du facteur rhumatoïde à IgM, le plus fréquemment utilisé, demeure un bon examen de dépistage de la PR, mais la spécificité du CCP2 est supérieure et sa recherche peut se montrer particulièrement utile en cas d'absence de facteur rhumatoïde chez des patients suspects de PR Vallbracht *et al.* (2004).

Le dosage combiné du CCP2 et des 3 isotypes de facteur rhumatoïde pourrait constituer un meilleur outil diagnostique et pronostique que celui des FR seuls, et permettre ainsi une décision thérapeutique plus précoce Perrier (2006).

### *III. Matériel et méthodes*

### **III. Matériel et Méthodes**

#### **III.1. Population cible**

Elle est constituée de 26 patients, provenant de différents services du CHU de Annaba (surtout du service de médecine interne) ou de la consultation, atteints de polyarthrite rhumatoïde (PR), dont le diagnostic a été établi au cours de l'année 2011.

#### **III.2. Le prélèvement**

5 ml de sang veineux de chaque patient sont prélevés sur tube sec. Le sang est laissé coaguler puis centrifugé à 2500 tours/min pendant 10 min.

Les sérums sont séparés du culot et conservés à une température de +2°C - +8°C pendant une période de 07 jours ou à -25°C pour une durée plus longue. La congélation doit être faite dans les 24 heures qui suivent le prélèvement en évitant les congélations/décongélations répétées.

Il est déconseillé d'utiliser les sérums fortement hémolysés, lipidiques ou sujet à une contamination bactérienne pouvant provoquer des interférences.

#### **III.3. Recherche du facteur rhumatoïde par le test de Waaler Rose**

Le test de Waaler rose est un test rapide utilisé pour la détection des facteurs rhumatoïde (FR). Le principe du test repose sur la réaction d'agglutination entre les hématies inertes fixées sur des IgG de lapin et les immunoglobulines principalement les IgM du malade.

##### **III.3. 1. Méthode qualitative**

Sur la plaque - test (lame sur laquelle se trouve plusieurs cercles à fond blanc), une goutte (50µl) du sérum non dilué, une goutte (50µl) du témoin positif et une goutte (50µl) du témoin négatif sont déposées sur des cercles différents.

- sachant que le témoin positif est formé du sérum humain avec une concentration de RF  $\geq 30$  UI/ml et de l'azoture de sodium (0,95 g/l).
- le témoin négatif est formé du sérum animal et de l'azoture de sodium 0,95 g/l.



### III. matériel et méthodes

Une goutte (50 $\mu$ l) de réactif Waaler Rose (constitué des hématies de mouton stabilisées et sensibilisées avec des IgG de lapin anti-mouton à pH 8.2 et de l'azoture de sodium 0,95 g/l) est ajoutée à côté de chaque goutte des sérums puis les deux gouttes juxtaposées sont mélangées en les étalant sur toute la surface du cercle.

La plaque test est posée sur une surface plane pendant deux minutes puis inclinée à 45°, reposée pendant une minute avant de passer à la lecture (présence ou absence d'agglutination).

#### III.3. 2. Méthode semi-quantitative

Le test semi-quantitatif est réalisé de la même manière que dans le test qualitatif, mais après dilution préalable de l'échantillon dans une solution salée (Na CL 9 g/l) (tableau3).

**Tableau 3 :** Dilution de l'échantillon pour le test de Waaler rose semi-quantitatif

Dilution	1/2	1/4	1/8	1/16
Echantillon de sérum	100 $\mu$ l			
Solution salée	100 $\mu$ l	100 $\mu$ l	100 $\mu$ l	100 $\mu$ l
		→ 100 $\mu$ l		
			→ 100 $\mu$ l	
				→ 100 $\mu$ l
Volume d'échantillon	50 $\mu$ l	50 $\mu$ l	50 $\mu$ l	50 $\mu$ l

#### III.3. 3. Interprétation des résultats

Le sérum de control positif doit donner une agglutination nette et le sérum de contrôle négatif ne doit pas réagir (il doit donner une suspension homogène).

La présence d'une agglutination dénote un taux de FR égal ou supérieur à 8 UI/ml dans l'échantillon, tandis que l'absence d'agglutination révèle un taux de FR inférieur à 8 UI/ml dans l'échantillon.

Le titre dans la méthode semi-quantitative se définit autant que la dilution la plus élevée présentant un résultat positif.

La concentration est l'inverse de la dilution de lecture positive (Tableau 4).

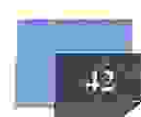


Tableau 4 : Titre de dilution par la méthode semi quantitative

8 x n° de dilution	8 x2	8 x 4	8 x 8	8 x 16
(UI/ml)	16	32	64	128

#### III.4. Technique de la néphélogométrie

L'opération de mesure est commencée après la compilation de la liste des emplois. L'analyseur effectue automatiquement les dilutions requises dans les godets des cassettes appropriées (sérum, dilutions, réactifs) (figure 16)

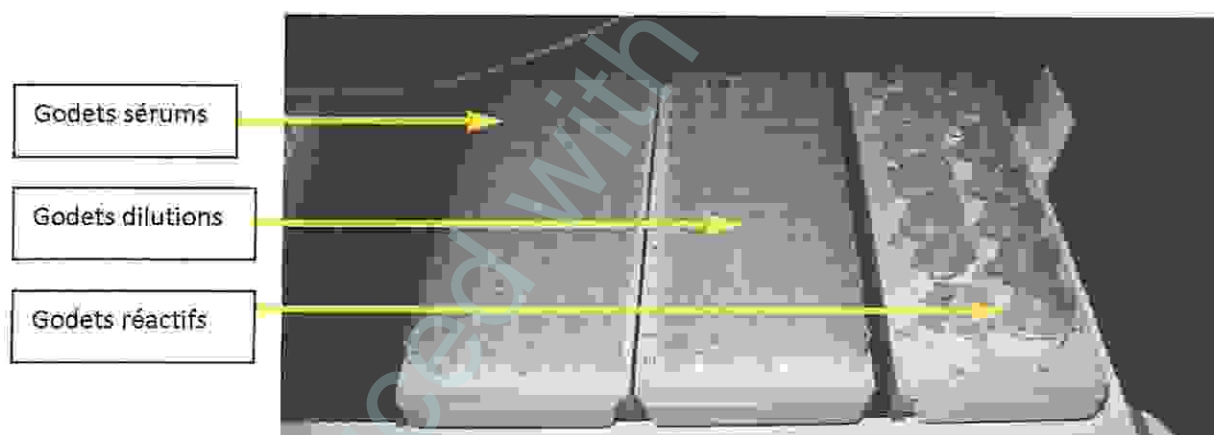


Figure 16 : Les godets de sérums, dilutions et réactifs du néphélogomètre behring 100

Afin d'éviter toute contamination, la pipette et le micro agitateur sont rincés dans la pipette station de lavage après chaque série de dilution. La pipette distribue ensuite le mélange d'essai dans les cuvettes du rotor. Après chaque action de pipetage, la pipette et le micro agitateur sont rincés dans la station de lavage (Figure 17).

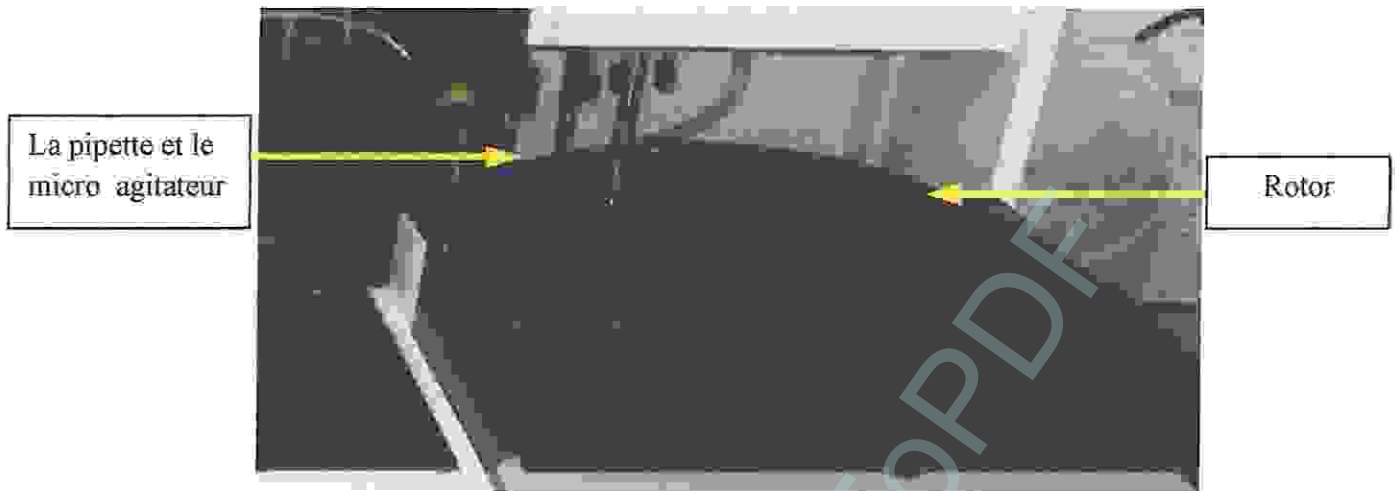


Figure 17 : rotor, pipette et agitateur.

Les préparatifs de réaction sont tournés dans le faisceau optique pour la mesure. Au cours de l'opération de mesure entier :

- ✓ Il ya un échantillons de contrôle qui est dilué avec les échantillons des patients en fonction du type de dosage (après neuf échantillons, un contrôle).
- ✓ Les dilutions des échantillons de patients sont produites automatiquement.
- ✓ Les résultats de la première mesure sont disponibles à partir d'environ 9 minutes Les résultats mesurés et tout affichage graphique peut être imprimé.

#### III.5. Recherche de l'anti CCP

##### III.5.1. Principe du test

La trousse anti-CCP est un dosage immuno-enzymatique utilisé pour la détermination quantitative des IgG contre les peptides cycliques citrullinés (CCP) dans le sérum humain.

Les anticorps présents dans les calibrateurs, le contrôle et les échantillons dilués réagissent avec des peptides synthétiques citrullinés immobilisés sur des microcupules en polystyrène.

Au cours d'une première incubation de 60 minutes, à température ambiante, les anticorps anti-CCP, s'ils sont présents, se fixent spécifiquement aux cupules.

Après lavage, un anticorps anti-IgG humaines conjugué à la peroxydase de raifort se lie aux immunoglobulines précédemment retenues sur la phase solide.

### III. matériel et méthodes

Au terme d'une seconde incubation de 30 minutes à température ambiante, l'excès de conjugué est éliminé par lavage, puis la présence de l'enzyme est révélée par un substrat chromogène (TMB). La densité optique de l'échantillon est déterminée par lecture à 450 nm sur un lecteur de microplaques après addition d'une solution d'arrêt : la valeur obtenue est comparée à la densité optique fournie par des calibrateurs de concentrations connues en anticorps anti-CCP.

#### III.5.2. Composition du kit pour 96 déterminations

Le kit utilisé pour le test anti-CCP est composé de plusieurs éléments cités ci-dessous :

- A microplaque :** 12 barrettes sécables de 8 cupules revêtus de peptides synthétiques citrulinés.



- B Tampon de lavage :** 1 flacon, 20 ml 5xConcentré (bouchon blanc: solution verte)

Contenant: Sérum humain + Sodium acide  $\text{NaN}_3$  < 0.1 %



- C Tampon de dilution :** 1 flacon, 20 ml 5xConcentré (bouchon blanc: solution jaune)

Contenant: Tris, Na Cl + BSA + Sodium acide  $\text{NaN}_3$  < 0.1 % Tris, Na Cl, BSA





### III. matériel et méthodes

---

**D Conjugué :** 1 flacon 15 ml IgG (bouchon bleue: solution bleue)

Contenant: anti immunoglobuline humain conjugué à la peroxydase de raifort



**E Substrat TMB (tétraméthylbenzidine) :** 1 flacon 15 ml (bouchon noir)

Contenant : du peroxyde d'hydrogène  $H_2O_2$  stabilisé TMB



**F Solution d'arrêt :** 1 flacon 15 ml (bouchon blanc: solution incolore)

Contenant : 1 M HCl (acide chlorhydrique)



**1 - 5 Calibrateurs :** 6 flacon 15 ml (0, 3, 10, 30, 100, 300 u /ml) (défroissage couleur avec la concentration: solutions jaune)

Contenant : sérum humain + Sodium acide  $NaN_3$  < 0.1 %



### III. matériel et méthodes

---

**Témoin positif :** 1 flacon 1.5 ml (bouchon rouge : solution jaune)

Contenant : sérum humain + Sodium azide  $\text{NaN}_3$  <0.1 %



**Témoin négatif :** 1 flacon 1.5 ml (bouchon vert : solution incolore)

Contenant : sérum humain + Sodium azide  $\text{NaN}_3$  <0,1 %



#### III.5.3. Protocole de dosage

Les sérums des patients sont dilués au 1/101 (v/v) : 5  $\mu\text{l}$  sérum + 500  $\mu\text{l}$  du tampon de dilution (C). Une fois l'analyse commencée, toutes les étapes, résumées dans le tableau (5), doivent être menées à leur terme sans interruption, en respectant les temps d'incubation prescrits.

**Remarques:** les étapes de lavage sont essentielles pour garantir de bons résultats. Les lavages insuffisants entraînent une mauvaise précision et des DO faussement élevées.

Le lavage doit être réalisé en aspirant ou en vidant l'excès du tampon avec du papier absorbant. Chaque cupule doit être lavée 3 fois avec 300  $\mu\text{l}$  de solution de lavage (B). Le temps de contact de la solution de lavage est de 5 secondes.

Tableau 5: Etapes résumées du protocole du test de détection de l'Anti-CCP

1	Amener tous les réactifs à température ambiante (20 à 25°C)			
		CAL	Contrôle	Patient   etc.
2	Pipeter	100 µ l	100 µ l	100 µ l
3	Incuber	30 minutes à température ambiante		
4	Laver et décanter	3 x 300 µ l (à partir de B)		
5	Pipeter le conjugué (D)	100 µ l	100 µ l	100 µ l
6	Incuber	30 minutes à température ambiante		
7	Laver et décanter	3 x 300 µ l (à partir de B)		
8	Pipeter le substrat (E)	100 µ l	100 µ l	100 µ l
9	Incuber à l'abri de la lumière	30 minutes à température ambiante		
10	Pipeter la solution d'arrêt (F)	100 µ l	100 µ l	100 µ l
11	Mesurer la DO à 450 nm dans les 30 minutes			

#### III.5.4. Expression des Résultats

Calculer la moyenne des DO pour chaque paire de cupules (calibrateurs, contrôle et échantillons). Construire sur du papier semi-logarithmique une courbe d'étalonnage en portant en ordonnée les DO des calibrateurs et leurs concentrations en abscisse. En fonction de la DO de chaque échantillon, lire directement la concentration sans appliquer de facteur de dilution.

## *IV. Résultats et discussion*

Produced with ScantOPDF



#### IV. Résultats et Discussion

Notre étude a porté sur 26 sujets atteints de polyarthrite, répartis en 6 hommes (23%) et 20 femmes (77%), avec un sex-ratio femme/ homme équivalent à 3,33 (Tableau 6). Nos résultats concordent avec d'autres travaux qui ont montré clairement que la PR touche principalement les femmes, avec un sex-ratio en moyenne de 3 femmes atteintes pour un homme Jawaheer (2006) ; Combe (2006).

L'âge des patients d'étude s'échelonne entre 1 et 71 ans, avec répartition de 46.15 % d'individus âgés entre 01 et 25 ans, 46.15 % de la tranche d'âge 26 - 55 ans, et seulement 07.69 % d'âge supérieur à 55 ans (Tableau 7).

Alors que l'arthrite est fréquemment perçue comme une maladie de la vieillesse, près de 4 sujets sur 9 ayant signalé souffrir d'arthrite/de rhumatisme avaient en réalité un âge  $\leq 25$  ans et 3 / 9 (0.92)  $\leq 55$  ans et seulement 1 sur 13 dépassant les 65 ans. Ce résultat se rapproche de celui qui a été signalé par Lagacé *et al.* (2003) et qui a montré que 3/5 (0.6) patients présentant une PR ont moins de 65 ans.

D'autre part, les mêmes auteurs ont remarqué que la prévalence de l'arthrite/du rhumatisme augmente de façon remarquable avec l'âge jusqu'à la tranche 55 – 65 ans puis commence à régresser, ce qui n'est pas le cas dans notre population. La prévalence est la même chez la population de la tranche d'âge jeune (1 à 25 ans) et moyen (26 – 55 ans).

Toutefois, notre échantillon n'est pas suffisamment important pour en tirer une conclusion.

**Tableau 6 :** Distribution de l'échantillon selon le sexe

<i>Sexe</i>	<i>Hommes</i>	<i>Femmes</i>	<i>Total</i>
<i>Effectifs (Patients)</i>	06	20	26
<i>%</i>	23.00%	77.00%	100%

*Sexe ratio* : F/H = 3,33.

**Tableau 7 :** Distribution de l'échantillon selon la tranche d'âge des patients

<i>Tranche d'âge (ans)</i>	<i>1 - 25</i>	<i>26 - 55</i>	<i>56 - 75</i>
<i>Nbr</i>	12	12	2
<i>%</i>	46.15	46.15	07.69

**IV.1. Résultat du FR par technique de WR et néphélogétrie**

La recherche du facteur rhumatoïde chez nos patients par l'étude qualitative de Waaler Rose nous a permis de remarquer une agglutination dans quelques échantillons et non dans d'autres (figure 18), Tableau 8. Une agglutination nette indique une concentration en FR supérieure ou égale à 8 UI/ml. Les échantillons dont les concentrations sont inférieures à 8 UI/ml ne forment pas d'agglutination (D'après les valeurs du Kit utilisé au laboratoire).

A partir des résultats obtenus de notre étude qualitative, 15 patients (57.7%) négatifs, et 11 patients (42.3%) sont positifs (Figure 19).



**Test d'agglutination positive**

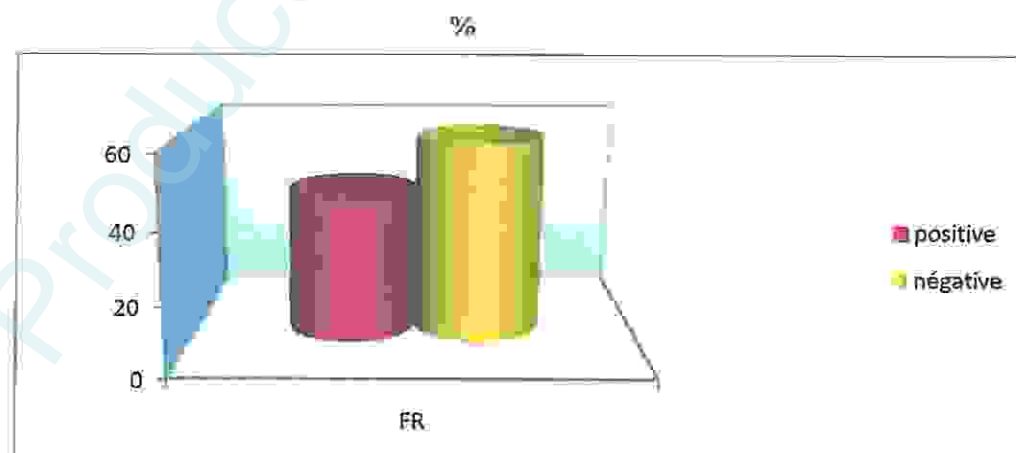
**Test d'agglutination négative**

**Figure 18 :** résultat de test de WR sur plaque

#### IV. Résultats et discussion

**Tableau 8 : Résultats qualitatifs\* (Waler Rose) et quantitatifs\*\* (Néphélométrie) du FR**

Numéro	Age	Sexe	Service	Maladie	FR *	FR**
1	38	M	Infectieux	PR	(+)	234.2
2	38	M	Dermatologie	PR	(-)	10.1
3	32	F	MI	PR	(+)	393
4	50	F	AMB	PR	(+)	644
5	35	F	AMB	PR	(-)	10.1
6	48	F	AMB	PR	(-)	10.1
7	47	F	Néphrologie	PR	(+)	160.9
8	08	F	Pédiatrie/GF	ACJ	(-)	10.1
9	04	M	Pédiatrie	ACJ	(-)	10.1
10	30	F	MI	PR	(+)	447
11	14	F	Urgence	ACJ	(+)	19
12	1	F	Nourrisson	ACJ	(+)	32
13	18	M	Hémato	PR	(-)	10.1
14	39	F	MI	PR	(-)	10.1
15	16	F	AMB	PR	(+)	31.1
16	20	M	Pédiatrie	PR	(-)	10.1
17	56	F	AMB	PR	(-)	10.1
18	22	F	Néphrologie	PR	(-)	10.1
19	01	F	NRS	ACJ	(+)	32
20	71	M	MI	PR	(+)	644
21	46	F	Hémato	PR	(-)	10.1
22	18	F	MI	PR	(-)	10.1
23	35	F	AMB	PR	(-)	10.1
24	05	F	Pédiatrie	ACJ	(-)	10.1
25	50	F	AMB	PR	(-)	10
26	11	F	Pédiatrie GE	ACJ	(+)	32



**Figure 19 :** Pourcentage de détection du FR par agglutination (Waler Rose)

#### ***IV. Résultats et discussion***

Pour l'étude quantitative, on a préféré de se baser sur la technique d'automatisation utilisant l'automate néphélomètre. Les résultats obtenus et illustrés dans le tableau 8 représentent la dilution la plus élevée qui donne un résultat positif. On remarque d'après nos résultats que l'agglutination est remarquée lorsque le titre est supérieur à 10.1.

#### **IV .2.Anti ccp**

Les valeurs de densité optique (DO) obtenues par la technique anti-ccp de nos échantillons sont comparées aux valeurs de références (Tableau 9), pour confirmation de la positivité ou la négativité du test, puis ils sont présentés dans le tableau 10 et la figure 19.

**Tableau 9 : Valeurs de référence**

Anti-CCP	DO
<b>Positif</b>	<b>&gt;0.06</b>
<b>Douteux</b>	<b>[0,05-0,06]</b>
<b>Négatif</b>	<b>&lt; 0,05</b>

Ces résultats ont montré que le test était positifs chez 21 cas ce qui représente (80.7 %) de la population étudiée, 3 cas seulement (11.5 %) étaient négatifs et 2 (7.69 %) douteux.

En comparant les résultats de la détection du facteur rhumatoïde et des anti-ccp (Tableau 11), on remarque que dans certains cas la détection du FR était négative alors qu'elle a montré une positivité avec les anti-ccp comme chez les patients (5, 6, 8, 9, 13, 14, 16, 17, 18, 21, 22 et 23).



Tableau 10 : Résultats Anti-ccp des patients

Numéros	Age	Sexe	Service	Maladie Diagnostiquée	DO	Anti-CCP
1	38	M	Infectieux	PR	0,049	-
2	38	M	Dermatologie	PR	0,057	(+/-)
3	32	F	MI	PR	0,060	+
4	50	F	AMB	PR	0,061	+
5	35	F	AMB	PR	0,067	+
6	48	F	AMB	PR	0,060	+
7	47	F	Néphrologie	PR	0,082	+++
8	08	F	Pédiatrie/GF	ACJ	0,232	+++
9	04	M	Pédiatrie	ACJ	0,066	++
10	30	F	MI	PR	0,067	++
11	14	F	Urgence	ACJ	0,062	+
12	1	F	Nourrisson	ACJ	0,054	(+/-)
13	18	M	Hémato	PR	0,065	+
14	39	F	MI	PR	0,064	+
15	16	F	AMB	PR	0,062	+
16	20	M	Pédiatrie	PR	0,065	+
17	56	F	AMB	PR	0,065	+
18	22	F	Néphrologie	PR	0,067	++
19	01	F	NRS	ACJ	0,205	+++
20	71	M	MI	PR	0,178	+++
21	46	F	Hémato	PR	0,145	+++
22	18	F	MI	PR	0,132	+++
23	35	F	AMB	PR	0,061	+
24	05	F	Pédiatrie	ACJ	0,001	-
25	50	F	AMB	PR	0,001	-
26	11	F	Pédiatrie GE	ACJ	0,110	+++

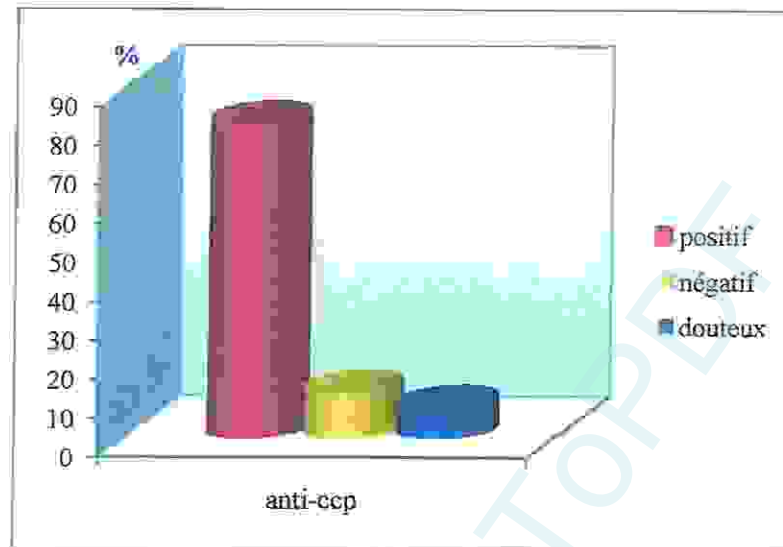


Figure 19 : Pourcentage de détection d'Anti-ccp

En effet, et après récapitulation des résultats (figure 20), on note que 34,6% des cas ont montré un test positif pour les deux paramètres FR et Anti-ccp, 7,7 % des cas étaient négatifs avec les deux tests alors que 30,7% de la population étudiée ont enregistré une absence du FR et une présence d'Anti-ccp.

Le résultat le plus étonnant, c'était les cas 1 qui représente (3.84%), où on a enregistré la présence du FR avec une absence des Anti-ccp, ceci peut s'expliquer par un certain nombre de faits qui sont :

- l'erreur du diagnostic comme dans le cas du premier patient où la présence du Fr peut être due à une autre infection.
- un traitement immunosuppresseur qui bloque la production d'auto-anticorps.

#### IV. Résultats et discussion

Tableau 11 : Comparaison entre les résultats positifs et négatifs des 2 marqueurs  
FR et Anti-ccp

Numéro	Maladie	FR	Anti-CCP
1	PR	(+)	-
2	PR	(-)	(+/-)
3	PR	(+)	+
4	PR	(+)	+
5	PR	(-)	+
6	PR	(-)	+
7	PR	(+)	+++
8	ACJ	(-)	+++
9	ACJ	(-)	++
10	PR	(+)	++
11	ACJ	(+)	+
12	ACJ	(+)	(+/-)
13	PR	(-)	+
14	PR	(-)	+
15	PR	(+)	+
16	PR	(-)	+
17	PR	(-)	+
18	PR	(-)	++
19	ACJ	(+)	+++
20	PR	(+)	+++
21	PR	(-)	+++
22	PR	(-)	+++
23	PR	(-)	+
24	ACJ	(-)	-
25	PR	(-)	-
26	ACJ	(+)	+++

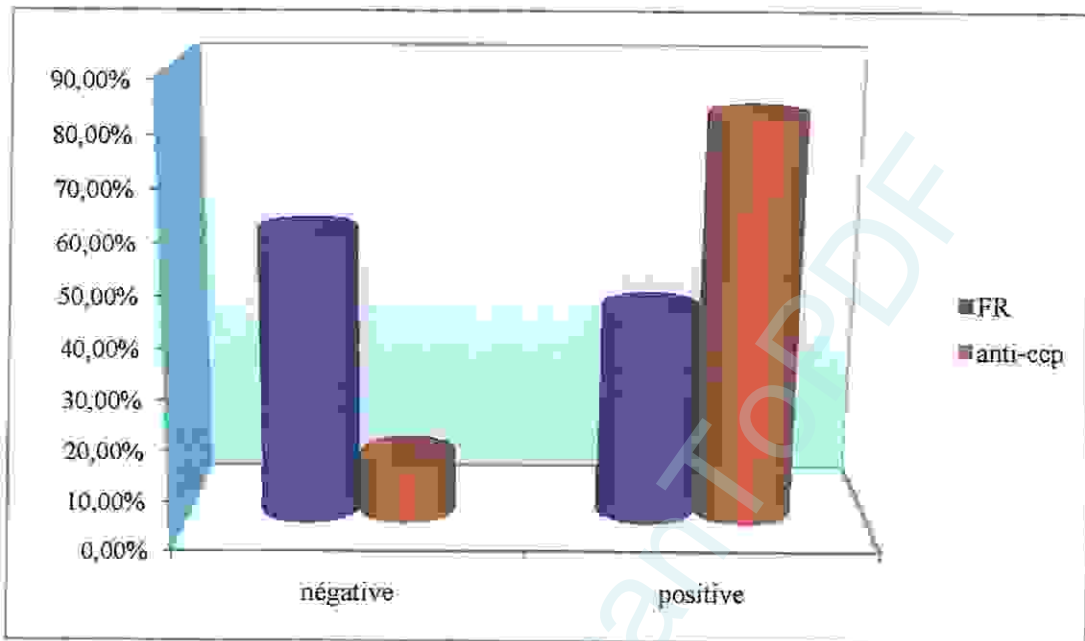


Figure 20 : Comparaison entre les pourcentages positifs et négatifs FR et Anti-ccp

Enfin, on peut dire que le dosage du facteur rhumatoïde à IgM, le plus fréquemment utilisé, donne un bon examen de dépistage de la PR, mais il manque de sensibilité (70%) et de spécificité (87%) Nendaz & perrier (2004).

La spécificité de l'Anti-ccp est supérieure, elle peut atteindre (95,8%) et sa sensibilité arrive jusqu'au 95,2%

Ainsi la recherche d'Anti-ccp peut se montrer particulièrement utile en cas d'absence de facteur rhumatoïde chez des patients suspect de PR (Kit d' Anti-ccp), Floris *et al.* (2010).



## *V. Conclusion*

Produced with ScanTOPDF

## **V. Conclusion**

Le sérum des patients atteints de PR renferme des auto-anticorps dirigés contre beaucoup d'auto-antigènes, mais la plupart d'entre eux ne sont pas spécifiques à la maladie.

La présence de facteurs rhumatoïdes (FR) constitue un des sept critères de classification de l'American College of Rheumatology (ACR) pour la PR. Cependant et à partir des données fournis par nos résultats on peut conclure que les FR sont des anticorps assez sensibles mais ils ne sont pas très spécifiques puisqu'ils sont présents dans d'autres maladies rhumatismales ou inflammatoires (en particulier dans d'autres types d'arthrites mimant la PR), dans certaines infections et chez une partie de la population en bonne santé, en particulier chez les gens âgés.

Parmi plusieurs sujets étudiés au cours de ces dernières années, les anticorps anti-protéines citrullinées sont apparus comme étant les plus prometteurs car ils possèdent une spécificité élevée, une capacité à diagnostiquer la PR de façon précoce et à prédire les formes les plus agressives de la maladie.

# *Perspectives*

Produced with ScanTOPDF

## **Perspectives**

La PR est donc un précédés d'une longue phase préclinique. La survenue des signes cliniques constitue en quelque sorte « la complication » d'un processus physiopathologique initié au moins dix ans auparavant. L'étude de la phase préclinique offre la possibilité d'une connaissance de plus en plus fine des mécanismes pathogéniques et de la découverte à plus ou moins long terme de l'antigène ou des antigènes inducteur(s) de la maladie.

-Il est préférable d'ajouter les anti-ccp dans les critères de diagnostiquer la polyarthrite rhumatoïde.

-Eventuellement proposer les anti-ccp comme test de dépistage :

-Familles de patients

-Population générale.

-Le test est disponible comme une méthode manuelle ELISA, donc pour augmenter la sensibilité et la spécificité du test il est préférable qu'elle soit entièrement automatisée.

Produced with Scantopdf



**La bibliographie**

- 1- **Bas S. (2005):** Utilité des anticorps antiprotéines citrullinées dans le diagnostic et le pronostic de la polyarthrite rhumatoïde, *Revue médicale suisse.*, 52(10) : 33-42.
- 2- **Benzair A.B. (2005):** immunologie les connaissances de base. Office des publication universitaires, 1ère édition, Alger, 244p.
- 3- **Burmester G.R. & Pezzuto A. (2000):** Atlas de poche d'immunologie. Flammarion Médecine-Sciences (Ed), Paris, 293p.
- 4- **Carson D.A.; Chen P.P. & Kipps T.J. (1991) :** Nex roles for rheumatoid factor. *J Clin. Invest.*, 87 : 379-383
- 5- **Cavaillon J.M. (2005):** Molecular mediators : cytokines. *Encyclopedia of Molecular Cell Biology and Molecular Medicine*, 2ème édition, Germany, 460p.
- 6- **Chapel H.; Heney M.; Misbah S. & Snowden N. (2004):** éléments de base: structure et fonction. In : " immunologie clinique". De boeck (Ed), 4ème édition, Bruxelles, pp 2-31.
- 7- **Combe B. (2006) :** La polyarthrite rhumatoïde des hommes.  
Journal de L'AFP (Association Française des Polyarthrites)
- 8- **Davidson A et Diamond B. (2001) :** Autoimmune diseases. *New England Journal of Medicine*, 45:340-350.
- 9- **Guermazi A.; Taouli B.; Lynch JA. & Peterfy CG. (2004):** Imaging of bone erosion in rheumatoid arthritis. *Semin Musculoskelet Radiol*, 8:269-85.
- 10- **Floris A., van gaalen et coll. (2010) :** les marqueurs de la polyarthrite rhumatoïde  
N° 72.650-655.

11- **Janeway C.A.; Traves Jr. & Traves P. (1979):** immunobiologie. De boek slarcier (Eds) Paris, Bruxelles, 582p.

12- **Jonsson T.; Thorsteinsson H.; Arinbjarnarson S.; Thorsteinsson J. & Valdimarsson H. (1995):** Clinical implications of IgA rheumatoid factor subclasses. *Ann Rheum Dis.*, 54 : 578-581.

13- **Jawaheer D., Lum R., Gregersen P. & Criswell L. (2006):** Influence of male sex on disease phenotype in familial rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.*, 54:3087-3094.

14- **Hazes J.M.; Breedveld F.C. & van Venrooij W.J. (2000):** The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide, *Arthritis Rheum.*, 43(1): 155-163.

15- **Humbel R.L. (1999) :** Histoire des anticorps antinucléaires. *Geail info* n° 2 : 1-15.

16- **Le Goff P & Saraux A (2003) :** Intérêt des anticorps anti-citrulline dans la Polyarthrite rhumatoïde : Résumé congrès partie 1, *Spectra biologie*, n° 102 : 1- 27,

17- **Male D., Brostoff J., Roth D B., Roitt I. (2007):** Immunologie , Ed. Elsevier Masson, 7eme édition, Paris, 624p.

18- **Morel J. ;Miossec P.& Combe B(2004):** Immunopathologie de la polyarthrite rhumatoïde. EMC-Rhumatologie Orthopédie, volume 1. P. 218-230

19- **Lagacé C., Perruccio A., DesMeules M. & , Badley E. (2003) :** Impact de l'arthrite sur les canadiens. In « Ottawa, Santé Canada. ed. », 9-30 pp.

20- **Nendaz M.R., Perrier A. (2004) :** sensibilité, spécificité, valeur prédictive négative et positive d'un test diagnostique., N° 2 p 390-393.

21-**Morel J. & Combe B. (2005):** How to predict prognosis in early rheumatoid arthritis. *Best Pract Res Clin Rheumatol.*, 19:137-46.

22-**Ostergaard M.; Ejbjerg B. & Szkudlarek M. (2005):** Imaging in early rheumatoid arthritis: roles of magnetic resonance imaging, ultrasonography, conventional radiography and computed tomography. *Best Pract Res Clin Rheumatol.*, 19:91-116.

23- **Parham P. (2003):** Le système immunitaire. De boek (Ed), 4ème édition, paris, 406p.

24-**Perrier J.J. (2006) :** Le dosage des anticorps antiprotéines citrullinées : intérêt pour le diagnostic et le pronostic de la polyarthrite rhumatoïde. *Spectra Biologie*, n° 150: 1-20.

25-**Sany J. (2003) :** La polyarthrite rhumatoïde de l'adulte. John Libbey Eurotext (Ed), 298p.

26- **Semana G. (2010):** différenciation lymphocytaire T, *Geall info.* , 64(10): 1-21.

27-**Vallbracht L; Rieber J. & Oppermann M. (2004):** Diagnostic and clinical value of anti cyclic citrullinated peptide antibodies compared with rheumatoid factor isotypes in rheumatoid arthritis. *Ann. Rheum. Dis.*, 63: 1079-1084.

**3-Les sites :**

- [1]- **Anonyme (2005):** Les maladies du système immunitaire humain  
[www.immuno-meda.u-strasbg.fr/.../MAI-DNA-2005](http://www.immuno-meda.u-strasbg.fr/.../MAI-DNA-2005). (consulté le : 27 Mai 2011).
- [2]- **Baiche L. (2010):** Polyarthrite rhumatoïde : De plus en plus d'Algériens concernés.  
[www.djazairress.com/fr/horizons/7157](http://www.djazairress.com/fr/horizons/7157) (consulté le: 27 Mai 2011).
- [3]- **Anonyme (2009):** Cours - Anatomie - Le système immunitaire  
[www.revue.medhyg.ch/article.com](http://www.revue.medhyg.ch/article.com) . (Consulté le:12/03/2011).
- [4]-**Anonyme (2001):** Les composants de système immunitaire  
[www.cliniscience.com/result](http://www.cliniscience.com/result). (Consulté le: 13/04/2009).
- [5]- **Anonyme (2010):** Les principaux organes du système immunitaire.  
[www.unblog.fr](http://www.unblog.fr) (Consulté le: 13/04/2009).
- [6]-**Anonyme (2001):** l'immunité inné  
[www.aquaportail.com/définition-2095-lymphocytes.html.com](http://www.aquaportail.com/définition-2095-lymphocytes.html.com) (consulté le:13/04/2009).
- [7]-**Anonyme (2005):** le système immunitaire.  
[www.fr.wikipedia.com](http://www.fr.wikipedia.com) . (Consulté le:12/02/2011).
- [8]- **El-Dahr J.M. (2000) :** Le système de défense de l'organisme contre les Envahisseurs étrangers.  
[www.futura-sciences.Com](http://www.futura-sciences.Com) . (Consulté le:23/04/2011).
- [9]- **La comité éditorial. (2007):** L'immunité acquise (ou spécifique).  
[www.Tpe-causesccu-vaccin.emonsitr.com](http://www.Tpe-causesccu-vaccin.emonsitr.com). (Consulté le:26/04/2011).
- [10]- **Gosselin J. (2005) :** Rôle de médiateurs lipidiques dans l'activation de la réponse immunitaire innée.  
[www.crchuq.uval.com](http://www.crchuq.uval.com) (Consulté le:12/04/2011).
- [11]- **Menno j. (2006) :** molécules de l'immunité.



[www.evi.edunet.tn](http://www.evi.edunet.tn). (Consulté le:26/04/2011).

[12]- **Riken (2010)** : mécanisme de la différenciation cellulaire B dans la réponse immunitaire.

<http://www.club-allergie.fr>. (Consulté le:26/04/2011).

[13]- **Anonyme (2009)** : La réponse immunitaire.

[www.maladies-a-tiques.com](http://www.maladies-a-tiques.com). (Consulté le:11/03/2009).

[14]-**Anonyme (2005)** : Maladies auto-immunes. Aspects épidémiologiques, Diagnostiques et principes de traitement

[cofer.univ-lille2.fr/2eme\\_cycle/items/item\\_116.htm#05](http://cofer.univ-lille2.fr/2eme_cycle/items/item_116.htm#05). (Consulté le: 24/03/2011).

[15]-**Sibilia J.(2009)** : le diagnostique des maladies auto immunes.

[www.esculape.com/message390.g.html](http://www.esculape.com/message390.g.html). (Consulté le:24/03/2011).

[16]-**Korganow A.S. et al. (2000)**: Pathologies auto-immunes: aspects épidémiologiques, diagnostiques et principes de traitement. Service d'Immunologie Clinique

[immuno-meda.u-strasbg.fr](http://immuno-meda.u-strasbg.fr). (Consulté le:21/03/2011).

[17]- **Anonyme (2009)** : les causes des maladies auto immune.

[vitalitywellness.com/auto-immunity/](http://vitalitywellness.com/auto-immunity/). (Consulté le: 21/03/2011).

[18]- **Anonyme (2006)** : Les facteurs rhumatoïdes.

[www.rhumatologie.asso.fr](http://www.rhumatologie.asso.fr), (Consulté le:21/03/2011).

[19]-**Américh G. (2003)** : les marqueurs biologiques des rhumatismes inflammatoires aigues.

[corine.bensimon.pageperso-orange.fr/marqueurs.htm](http://corine.bensimon.pageperso-orange.fr/marqueurs.htm). (Consulté le:12/02/2011).

[20]-**Boire (2010)** : la polyarthrite rhumatoïde :anatomie et causes

[www.passeportsante.net/fr/Maux/Problemes/Fiche.aspx?doc=polyarthrite\\_pm](http://www.passeportsante.net/fr/Maux/Problemes/Fiche.aspx?doc=polyarthrite_pm)  
(Date de consultation 11/3/2011).

[21]- **Anonyme (2011)** : Déformation des articulations grâce a polyarthrite rhumatoïde

*www.planet-techno-science.com (date de consultation 28/5/2011).*

[22]-**Anonyme (2007)** : polyarthrite rhumatoïde : diagnostic et prise en charge initiale : [www.has-sante.fr/portail/jcms/c\\_706529/examen-classant-national-ecn-module-8-immunopathologie-reaction-inflammatoire-de-la-question-112-a-127](http://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_706529/examen-classant-national-ecn-module-8-immunopathologie-reaction-inflammatoire-de-la-question-112-a-127)(date de consultation 17/3/2011).

[23] -**Astier F. & Baldomir E. (2009)**:la polyarthrite rhumatoïde

*www.reseauconceptuel.umontreal.ca (date de consultation 21/5/2011)*

[24]- **Durez P. (2004)** : la polyarthrite rhumatoïde : Brochure d'information à l'usage des patients : [www.anastasia.province.namur.be](http://www.anastasia.province.namur.be) (date de consultation 25/4/2011)

[25]-**Combe B. (2009)** : Polyarthrite rhumatoïde : Clinique et diagnostique

[www.rhumatologie.asso.fr/.../Pro\\_polyarthrite\\_rhumatoïde](http://www.rhumatologie.asso.fr/.../Pro_polyarthrite_rhumatoïde) (date de consultation 12/5/2011)

[26]- **Rossant L & Rossant J.L (2009)** : Encyclopédie médicale : Polyarthrite rhumatoïde

[www.doctissimo.fr/html/sante/encyclopedie/sa\\_1087\\_polyarthrite.htm](http://www.doctissimo.fr/html/sante/encyclopedie/sa_1087_polyarthrite.htm)  
(Date de consultation 3 /5/2011).

[28] -**Bezza A.; Achemlal L.; Maunach A.; Ghazi M & El Magbraoui A (2010)**: diagnostic d'une polyarthrite rhumatoïde Récente: [www.rhumato.info/PR diagnostic précoce](http://www.rhumato.info/PR_diagnostic_precoce) (date de consultation 7/5/2011).

[27]-Meyer O. ;rouquette A.P. ;Youinou P (1991) :auto anticorps :marqueurs des maladies auto-immunes

*www.kowid.free.fr/pharm/immuno/index.htm(date de consultation 22/5/2011)*

[29]-Dubrous P. ;Gardet V.& Hugard L (2005) :intérêt des anticorps anti peptides cyclique citrullinés par apport aux facteurs rhumatoïde pour le diagnostic de la polyarthrite rhumatoïde

*www.bmd-net.com (date de consultation 11/3/2001).*

[30]-Lauwer B.R (2004) : les marqueurs biologiques dans la photologies rhumatismales systémique

*www.perso.wandoo.fr/corine.bensimon/marqueurs/htm(date de consultation 15/4/2011).*

[31]-Geal L (2000) : les tests immunologiques

*www.medinfos.com/principales/fichiers/pm-rhu-polyarthrhum.shtml(date de consultation 7/4/2011).*

[32]-Vogta T.; Regennasb S.; Schlumpfc A. & Tyndalla A (2003):autoanticorp en rhumathologie

*www.biodvance.com(date de consultation 12/4/2011).*

## ملخص

داء التهاب المفاصل هو مرض مزمن ذاتي يخلق تشوهات خطيرة و متلفة للمفاصل. شملت دراستنا 26 شخصاً يعانون من التهاب المفاصل الروماتويدي، 6 رجال (23%) و 20 امرأة (77%) مع ما يعادل نسبة الجنس بين الذكور و الإناث إلى 3,33. استخدمنا تقنيات مناعية للكشف عن اثنين من علامات التهاب المفاصل الروماتويدي (العامل الروماتويدي) و أجسام مضادة المضادة للدوري البيبتيد الستر يليني. من النتائج التي تم الحصول عليها بواسطة تقنية الكشف عن عامل الروماتويدي كان 15 مريضاً (57,7%) لهم نتيجة سلبية، و 11 مريضاً (42,3%) كانت ايجابية، في حين أن تقنية الأجسام المضادة المضادة للدوري البيبتيد الستر يليني أظهرت أن الاختبار كان ايجابياً في 21 حالة (80,7%) و لم يكن هناك سوى 3 حالات (11,5%) سلبية (7,69%) هي موضع شك. وبعد تلخيص النتائج لاحظنا ما يلي :

خصوصية وحساسية تقنية الأجسام المضادة المضادة للدوري البيبتيد الستر يليني اكبر من العامل الروماتويدي. انتشار داء التهاب المفاصل عند الإناث هو أكبر منه عند الذكور. معدل الإصابة بالروماتيزم عند المصابين أقل من 55 سنة أي 46,15% أكثر من المصابين الذين يزيد عمرهم عن 55 سنة أي 7,69% فقط. هذا يعني أن الأشخاص الذي يتراوح عمرهم بين السنة و 55 معروضون للإصابة أكثر من الأشخاص الذي يكبر عمرهم عن الـ 55 أو يساويه وهذا وفقاً لدراستنا .

كلمات البحث : العامل الروماتويدي، أجسام مضادة المضادة للدوري البيبتيد الستر يليني، داء التهاب المفاصل.



### **Abstract**

Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic autoimmune disease, sometimes creating strains and joint destruction.

Our study included 26 subjects with rheumatoid arthritis, 6 men (23%) and 20 women (77%) with a sex-male ratio equivalent to 3.33.

We used immunological techniques to detect two markers of RA (rheumatoid factor (RF) and anti-citrullinated cyclic peptide anti-body anti-CCP).

From the results obtained by the technique of detection of rheumatoid factor, 15 patients (57.7%) had a negative result, and 11 patients (42.3%) were positive, whereas with anti-CCP results showed that the test was positive in 21 cases which represents (80.7%) of the study population, only 3 cases (11.5%) were negative and 2 (7.69%) are doubtful.

Indeed, after summarizing the results we note that:

Specificity and sensitivity of anti-CCP is superior than RF.

The prevalence of injured among the population of female sex is superior to male sex.

The prevalence of achieving population  $\leq 55$  years (46, 15%) is greater than that  $\geq 55$  years (7.69%).

Therefore affected by RA in a population of 1 to 55 years is at least a population  $\geq 55$  years.

**key words:** rheumatoid factor, anti-citrullinated cyclic peptide anti-body, Rheumatoid arthritis.

Produced with Scantopdf