Étude comparative de la performance de marqueurs fécaux pour la prédiction de la réponse au traitement par infliximab dans la recto colite hémorragique

Anne Claire Frin

▶ **To cite this version:**

Anne Claire Frin. Étude comparative de la performance de marqueurs fécaux pour la prédiction de la réponse au traitement par infliximab dans la recto colite hémorragique. Médecine humaine et pathologie. 2013. dumas-00916410

HAL Id: dumas-00916410

https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-00916410

Submitted on 10 Dec 2013

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITE DE NICE SOPHIA ANTIPOLIS

FACULTE DE MEDECINE DE NICE

Etude comparative de la performance de marqueurs fécaux pour la prédiction de la réponse au traitement par infliximab dans la recto colite hémorragique

THESE

Présentée et soutenue publiquement devant
LA FACULTE DE MEDECINE DE NICE

Le 19 novembre 2013

par

Anne Claire FRIN
Née le 11 décembre 1985 à Martigues

Pour obtenir le grade de Docteur en Médecine
(Diplôme d'Etat)

Discipline d'Hépato-Gastro-Entérologie

Examinateurs de la thèse :

Monsieur le Professeur Xavier HEBUTERNE	Président du jury
Monsieur le Professeur Albert TRAN	Assesseur
Monsieur le Professeur Stéphane SCHNEIDER	Assesseur
Madame le Docteur Patricia FERRARI	Assesseur
Monsieur le Docteur Jérôme FILIPPI	Directeur

UNIVERSITÉ DE NICE-SOPHIA ANTIPOLIS

FACULTÉ DE MÉDECINE

Liste des professeurs au **1er septembre 2013** à la Faculté de Médecine de Nice

Doyen — M. BAQUÉ Patrick

Assesseurs — M. BOILEAU Pascal
M. HÉBUTERNE Xavier
M. LEVRAUT Jacques

Conservateur de la bibliothèque — M. SCALABRE Grégory

Chef des services administratifs — Mme CALLEA Isabelle

Doyens Honoraires — M. AYRAUD Noël
M. RAMPAL Patrick
M. BENCHIMOL Daniel

Professeurs Honoraires

M. BALAS Daniel
M. BLAIVE Bruno
M. BOQUET Patrice
M. BOURGEON André
M. BOUTTÉ Patrick
M. BRUNETON Jean-Noël
Mme BUSSIERE Françoise
M. CHATEL Marcel
M. COUSSEMENT Alain
M. DARCOURT Guy
M. DELMONT Jean
M. DEMARD François
M. DOLISI Claude
M. FREYCHET Pierre
M. GÉRARD Jean-Pierre
M. GILLET Jean-Yves
M. GRELLIER Patrick
M. HARTER Michel
M. INGLESAKIS Jean-André
M. LALANNE Claude-Michel
M. LAMBERT Jean-Claude
M. LAPALUS Philippe
M. LAZDUNSKI Michel
M. LEFEBVRE Jean-Claude
M. LE BAS Pierre
M. LE FICHOUX Yves
M. LOUBIERE Robert
M. MARIANI Roger
M. MASSEYEFF René
M. MATTEI Mathieu
M. MOUIEL Jean
Mme MYQUEL Martine
M. OLLIER Amédée
M. ORTONNE Jean-Paul
M. SCHNEIDER Maurice
M. SERRES Jean-Jacques
M. TOUBOL Jacques
M. TRAN Dinh Khiem
M. ZIEGLER Gérard

M.C.A. Honoraire — Mlle ALLINE Madeleine

M.C.U. Honoraires

M. ARNOLD Jacques
M. BASTERIS Bernard
Mlle CHICHMANIAN Rose-Marie
M. EMILIOZZI Roméo
M. GASTAUD Marcel
M.GIRARD-PIPAU Fernand
M. GIUDICELLI Jean
M. MAGNÉ Jacques
Mme MEMRAN Nadine
M. MENGUAL Raymond
M. POIRÉE Jean-Claude
Mme ROURE Marie-Claire

PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE

M.	AMIEL Jean	Urologie (52.04)
M.	BENCHIMOL Daniel	Chirurgie Générale (53.02)
M.	CAMOUS Jean-Pierre	Thérapeutique (48.04)
M.	DARCOURT Jacques	Biophysique et Médecine Nucléaire (43.01)
M.	DELLAMONICA Pierre	Maladies Infectieuses ; Maladies Tropicales (45.03)
M.	DESNUELLE Claude	Biologie Cellulaire (44.03)
Mme	EULLER-ZIEGLER Liana	Rhumatologie (50.01)
M.	FENICHEL Patrick	Biologie du Développement et de la Reproduction (54.05)
M.	FRANCO Alain	Gériatrie et Biologie du vieillissement (53.01)
M.	FUZIBET Jean-Gabriel	Médecine Interne (53.01)
M.	GASTAUD Pierre	Ophtalmologie (55.02)
M.	GILSON Éric	Biologie Cellulaire (44.03)
M.	GRIMAUD Dominique	Anesthésiologie et Réanimation Chirurgicale (48.01)
M.	HASSEN KHODJA Reda	Chirurgie Vasculaire (51.04)
M.	HÉBUTERNE Xavier	Nutrition (44.04)
M.	HOFMAN Paul	Anatomie et Cytologie Pathologiques (42.03)
M.	LACOUR Jean-Philippe	Dermato-Vénéréologie (50.03)
Mme	LEBRETON Élisabeth	Chirurgie Plastique, Reconstructrice et Esthétique (50.04)
M.	MICHIELS Jean-François	Anatomie et Cytologie Pathologiques (42.03)
M.	PRINGUEY Dominique	Psychiatrie d'Adultes (49.03)
M.	QUATREHOMME Gérald	Médecine Légale et Droit de la Santé (46.03)
M.	SANTINI Joseph	O.R.L. (55.01)
M.	THYSS Antoine	Cancérologie, Radiothérapie (47.02)
M.	VAN OBBERGHEN Emmanuel	Biochimie et Biologie Moléculaire (44.01)

PROFESSEURS PREMIERE CLASSE

M.	BATT Michel	Chirurgie Vasculaire (51.04)
M.	BÉRARD Étienne	Pédiatrie (54.01)
M.	BERNARDIN Gilles	Réanimation Médicale (48.02)
M.	BOILEAU Pascal	Chirurgie Orthopédique et Traumatologique (50.02)
M.	BONGAIN André	Gynécologie-Obstétrique (54.03)
Mme	CRENESSE Dominique	Physiologie (44.02)

M.	DE PERETTI Fernand	Anatomie-Chirurgie Orthopédique (42.01)
M.	DRICI Milou-Daniel	Pharmacologie Clinique (48.03)
M.	ESNAULT Vincent	Néphrologie (52-03)
M.	FERRARI Émile	Cardiologie (51.02)
M.	GIBELIN Pierre	Cardiologie (51.02)
M.	GUGENHEIM Jean	Chirurgie Digestive (52.02)
Mme	ICHAI Carole	Anesthésiologie et Réanimation Chirurgicale (48.01)
M.	LONJON Michel	Neurochirurgie (49.02)
M.	MARQUETTE Charles-Hugo	Pneumologie (51.01)
M.	MARTY Pierre	Parasitologie et Mycologie (45.02)
M.	MOUNIER Nicolas	Cancérologie, Radiothérapie (47.02)
M.	MOUROUX Jérôme	Chirurgie Thoracique et Cardiovasculaire (51.03)
M.	PADOVANI Bernard	Radiologie et Imagerie Médicale (43.02)
M.	PAQUIS Philippe	Neurochirurgie (49.02)
Mme	PAQUIS Véronique	Génétique (47.04)
M.	RAUCOULES-AIMÉ Marc	Anesthésie et Réanimation Chirurgicale (48.01)
Mme	RAYNAUD Dominique	Hématologie (47.01)
M.	ROBERT Philippe	Psychiatrie d'Adultes (49.03)
M.	ROSENTHAL Éric	Médecine Interne (53.01)
M.	SCHNEIDER Stéphane	Nutrition (44.04)
M.	TRAN Albert	Hépato Gastro-entérologie (52.01)

PROFESSEURS DEUXIEME CLASSE

M.	ALBERTINI Marc	Pédiatrie (54.01)
Mme	ASKENAZY-GITTARD Florence	Pédopsychiatrie (49.04)
M.	BAHADORAN Philippe	Cytologie et Histologie (42.02)
M.	BAQUÉ Patrick	Anatomie - Chirurgie Générale (42.01)
M.	BARRANGER Emmanuel	Gynécologie Obstétrique (54.03)
M.	BENIZRI Emmanuel	Chirurgie Générale (53.02)
Mme	BLANC-PEDEUTOUR Florence	Cancérologie – Génétique (47.02)
M.	BREAUD Jean	Chirurgie Infantile (54-02)
Mlle	BREUIL Véronique	Rhumatologie (50.01)
M.	CANIVET Bertrand	Médecine Interne (53.01)
M.	CARLES Michel	Anesthésiologie Réanimation (48.01)
M.	CASSUTO Jill-Patrice	Hématologie et Transfusion (47.01)
M.	CASTILLO Laurent	O.R.L. (55.01)
M.	CHEVALLIER Patrick	Radiologie et Imagerie Médicale (43.02)
M.	DUMONTIER Christian	Chirurgie plastique
M.	FERRERO Jean-Marc	Cancérologie ; Radiothérapie (47.02)
M.	FOURNIER Jean-Paul	Thérapeutique (48-04)
M.	FREDENRICH Alexandre	Endocrinologie, Diabète et Maladies métaboliques (54.04)
Mlle	GIORDANENGO Valérie	Bactériologie-Virologie (45.01)
M.	GUÉRIN Olivier	Gériatrie (48.04)
M.	HANNOUN-LEVI Jean-Michel	Cancérologie ; Radiothérapie (47.02)
M.	IANNELLI Antonio	Chirurgie Digestive (52.02)
M.	JOURDAN Jacques	Chirurgie Thoracique et Cardiovasculaire (51.03)
M.	LEVRAUT Jacques	Anesthésiologie et Réanimation Chirurgicale (48.01)
M.	PASSERON Thierry	Dermato-Vénéréologie (50-03)
M.	PICHE Thierry	Gastro-entérologie (52.01)
M.	PRADIER Christian	Épidémiologie, Économie de la Santé et Prévention (46.01)
M.	ROGER Pierre-Marie	Maladies Infectieuses ; Maladies Tropicales (45.03)
M.	ROHRLICH Pierre	Pédiatrie (54.01)

M.	RUIMY Raymond	Bactériologie-virologie (45.01)
M.	SADOUL Jean-Louis	Endocrinologie, Diabète et Maladies Métaboliques (54.04)
M.	STACCINI Pascal	Biostatistiques et Informatique Médicale (46.04)
M.	THOMAS Pierre	Neurologie (49.01)
M.	TROJANI Christophe	Chirurgie Orthopédique et Traumatologique (50.02)
M.	VENISSAC Nicolas	Chirurgie Thoracique et Cardiovasculaire (51.03)

PROFESSEUR DES UNIVERSITÉS

M.	SAUTRON Jean-Baptiste	Médecine Générale

MAITRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

Mme	ALUNNI-PERRET Véronique	Médecine Légale et Droit de la Santé (46.03)
M.	AMBROSETTI Damien	Cytologie et Histologie (42.02)
Mme	BANNWARTH Sylvie	Génétique (47.04)
M.	BENOLIEL José	Biophysique et Médecine Nucléaire (43.01)
Mme	BERNARD-POMIER Ghislaine	Immunologie (47.03)
Mme	BUREL-VANDENBOS Fanny	Anatomie et Cytologie pathologiques (42.03)
M.	DELOTTE Jérôme	Gynécologie-Obstétrique (54.03)
M.	DOGLIO Alain	Bactériologie-Virologie (45.01)
Mme	DONZEAU Michèle	Biologie du Développement et de la Reproduction (54.05)
M.	FOSSE Thierry	Bactériologie-Virologie-Hygiène (45.01)
M.	FRANKEN Philippe	Biophysique et Médecine Nucléaire (43.01)
M.	GARRAFFO Rodolphe	Pharmacologie Fondamentale (48.03)
Mme	HINAULT Charlotte	Biochimie et biologie moléculaire (44.01)
Mlle	LANDRAUD Luce	Bactériologie–Virologie (45.01)
Mme	LEGROS Laurence	Hématologie et Transfusion (47.01)
Mme	MAGNIÉ Marie-Noëlle	Physiologie (44.02)
Mme	MUSSO-LASSALLE Sandra	Anatomie et Cytologie pathologiques (42.03)
M.	NAÏMI Mourad	Biochimie et Biologie moléculaire (44.01)
M.	PHILIP Patrick	Cytologie et Histologie (42.02)
Mme	POMARES Christelle	Parasitologie et mycologie (45.02)
Mlle	PULCINI Céline	Maladies Infectieuses ; Maladies Tropicales (45.03)
M.	ROUX Christian	Rhumatologie (50.01)
M.	TESTA Jean	Épidémiologie Économie de la Santé et Prévention (46.01)
M.	TOULON Pierre	Hématologie et Transfusion (47.01)

PROFESSEURS ASSOCIÉS

M.	DIOMANDE Mohenou Isidore	Anatomie et Cytologie Pathologiques
M.	HOFLIGER Philippe	Médecine Générale
M.	MAKRIS Démosthènes	Pneumologie
M.	PITTET Jean-François	Anesthésiologie et Réanimation Chirurgicale
Mme	POURRAT Isabelle	Médecine Générale

MAITRES DE CONFÉRENCES ASSOCIÉS

Mme	CHATTI Kaouthar	Biophysique et Médecine Nucléaire
M.	GARDON Gilles	Médecine Générale
Mme	MONNIER Brigitte	Médecine Générale
M.	PAPA Michel	Médecine Générale

PROFESSEURS CONVENTIONNÉS DE L'UNIVERSITÉ

M.	BERTRAND François	Médecine Interne
M.	BROCKER Patrice	Médecine Interne Option Gériatrie
M.	CHEVALLIER Daniel	Urologie
Mme	FOURNIER-MEHOUAS Manuella	Médecine Physique et Réadaptation
M.	MAGNÉ Jacques	Biophysique
M.	QUARANTA Jean-François	Santé Publique

Remerciements

Aux Membres du Jury,

A Monsieur le Professeur Xavier Hébuterne,
Merci de m'avoir fait l'honneur d'être le président de mon jury de thèse. Vous êtes pour moi un mentor, j'admire vos facultés à mettre vos connaissances au service des patients avec beaucoup d'humanité et de gentillesse. Merci également de mettre autant d'énergie dans la formation de vos internes. J'espère être à la hauteur de vos attentes tout au long de mon avenir professionnel.

A Monsieur le Professeur Albert Tran,
Merci d'avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse. Pendant mes six mois dans votre service, vous m'avez appris à développer la logique et la rigueur dans la prise en charge des patients. J'ai acquis grâce à vous de solides connaissances en hépatologie, que j'espère continuer à mettre à profit.

A Monsieur le Professeur Stéphane Schneider,
Stéphane, je n'aurais pas pu imaginer mon jury sans toi. Merci de m'avoir fait partager ton savoir en matière de nutrition pendant mon semestre à l'USN : je sais combien cela sera profitable pour moi dans le domaine de la cancérologie. Au plan personnel, merci d'être ce que tu es : un homme généreux, profondément gentil, qui sait comme personne laisser le professeur s'effacer quand les circonstances s'y prêtent.

A Madame le Docteur Patricia Ferrari,
Je vous suis extrêmement reconnaissante de prendre la peine de venir juger mon travail. Merci d'avoir mis autant de temps et d'énergie dans notre projet, car je suis consciente de vous avoir beaucoup sollicitée ! J'apprécie également votre gentillesse en toutes circonstances. Je serais heureuse que l'on ait l'occasion de réaliser un autre projet commun dans le futur.

A Monsieur le Docteur Jérôme Filippi,
Je ne te remercierai jamais assez de m'avoir proposé un travail de thèse. Bosser avec toi fut un plaisir, puisque j'ai pu me sentir à la fois autonome et soutenue tout au long de sa réalisation. Merci d'avoir su conforter mon attrait pour la gastro entérologie et de m'avoir supportée pendant mon premier semestre (ce qui ne fut pas une mince affaire !). Même si tu as toujours préféré Alix, je sais que je suis la seule et unique Shirley dans ton cœur !

A nos collaborateurs lyonnais,

A Monsieur le Professeur Stéphane Nancey,
Un grand merci d'avoir fait l'effort de réaliser les analyses statistiques de l'étude, à des heures parfois tardives, et malgré un emploi du temps surchargé. Tout au long de ce travail, vous avez toujours été d'une grande disponibilité et d'une grande gentillesse. Travailler avec vous fut une expérience enrichissante.

A madame le Docteur Jocelyne Drai,
Merci d'avoir pris la peine de doser tous les marqueurs fécaux, et de m'avoir donné de nombreuses informations à ce sujet.

A mes ainés,

A mes chefs de cancérologie,

A Abakar Mahamat,
Abakar, je te remercie de m'avoir fait découvrir ta discipline passionnante lors de mon passage en cancérologie. Tu as su m'encourager dans cette voie et me faire partager tes connaissances. Merci de ta disponibilité et de ta bonne humeur.

A Eric François,
Monsieur François, je vous suis extrêmement reconnaissante de m'avoir accueillie à de nombreuses reprises dans votre salle de consultation et d'avoir toujours pris le temps de me former. Merci également de m'avoir soutenue dans mes projets personnels et professionnels. J'espère que je serai à la hauteur de vos attentes.

A Ludovic Evesque,
Ludo, comment te dire… Travailler à tes côtés est un plaisir. Tu es toujours disponible et prêt à donner un coup de main à tes internes. Pour ce qui est des coups montés, je dois dire que je te décerne la palme d'or !

A Véronique Mari, Philippe Follana, et Gérard Cavaglione,
Ce fut un plaisir de vous côtoyer et d'avoir appris à vos côtés pendant mon semestre au CAL.

A tous mes chefs des autres disciplines,

Rodolphe Anty ,
Au-delà de toutes les connaissances que tu m'as apportées, je retiendrai toujours ton implication envers tes patients et ton service ! Je retiendrai aussi ton humour et tout particulièrement un fou rire inoubliable …. Dommage que l'Angleterre soit un peu loin : nous attendons avec impatience ton retour !

Eve Gelsi,
Eve, au cours de mon passage aux soins intensifs, tu as su m'apprendre à gérer l'urgence et à canaliser mon énergie débordante (et ce n'est pas peu dire !) ! Je te suis également reconnaissante de ta franchise et de ton soutien, autant au plan professionnel que personnel. Je garderai en mémoire quelques petites séances de bizutage inoubliables !!!

Kamel Arab,
Kamel, tu es une des personnes les plus disponibles et gentilles que je connaisse ! Merci de m'avoir toujours accueillie dans ta salle d'endoscopie, et merci de ces nombreuses voies centrales salvatrices !

Marie Lise Montoya,
J'admire énormément ta patience et ta gentillesse ! Tu sais adoucir la douleur des remplacements en Hôpital de semaine ! J'espère avoir encore l'occasion d'apprendre les explorations fonctionnelles à tes côtés !

Thierry Piche,
Je te remercie de m'avoir encouragée dans mes projets à chaque fois que je suis passée en hôpital de jour. J'espère que tu pourras dans l'avenir me faire partager tes compétences en matière de recherche clinique.

Geoffroy Vanbiervliet,
Je respecte beaucoup tes compétences en endoscopie. Même si l'entente entre nous n'a pas toujours été au beau fixe, j'espère pouvoir avoir l'occasion d'apprendre de toi à l'avenir.

Jenny Vibert,
Ma Jenny, quel plaisir d'avoir été sous ton aile lors de mon premier semestre ! Tu as renforcé mon attirance pour la gastro entérologie, et tu es restée depuis un modèle pour moi en termes de compétences et de gentillesse !

Gilbert Zeanandin,
Mon Gigi, merci de m'avoir fait partager tes connaissances lors de mon semestre à l'USN. Merci aussi de ta bonne humeur et de ta joie de vivre en toutes circonstances !

A mes chers co-internes,

Aux ainées, Cécile et Laurianne, mes deux grandes sœurs et confidentes. Vous êtes toutes les deux des personnes que j'estime et que j'aime énormément, qui ont toujours été présentes dans les bons comme les mauvais moments ! J'espère être à la hauteur de votre amitié. **A Sophie**, avec qui j'ai partagé tant de bons moments, **A Lilian**, notre ami moldave toujours prêt à dépanner !

A ma copine de promo Daniela, Je suis heureuse qu'on ait appris à bien se connaître au fil du temps, et qu'on ait réussi à s'accorder une solide confiance mutuelle dans l'adversité. Je te souhaite un bel avenir monégasque, et plein de bonheur dans ta vie personnelle !

A mes cadettes : Marie, avec qui j'ai fait un binôme du tonnerre ! Quel plaisir d'avoir été ta co-interne, même si ça a dû être un peu douloureux pour l'entourage en termes de décibels…. **A Delphine**, que j'admire pour son calme en toutes circonstances ! Je suis contente de pouvoir partager avec toi les looooongs looooongs cours de DESC !

Aux plus jeunes : Ophélie, Léa, **Dorsa et Clémence,** qui sont d'ailleurs plus si jeunes que ça et qui prennent la relève avec énergie et bonne humeur !

A mes co-internes du CAL : Mélanie et Audrey, je n'aurais pu espérer meilleur trio !

A mes co-internes de Médecine générale: Alix, avec qui j'ai partagé folie, rigolades et clopes, **Adrien, Marine, Pierre Jean,** avec qui j'ai pris plaisir à travailler.

A toutes les équipes soignantes,

Il y a tellement de choses à vous dire… Pendant ces quatre ans d'internat, nous avons partagé le jour, mais aussi la nuit : pas mal de galères, de pizzas, de fous rires, de bizutages musclés, de moments de complicité…

J'ai une pensée particulière pour **les membres du STC** : Marie Aline, Christine, les deux Alex, Alexane, Mathilde, Carine, Elisabeth Delph, Laurent, Fafa, **les membres de l'USN** : Alex, Sab, Nath, Angie, Laïla, Céline, Marie Lena, Victoria, Cathy**,** Véro, **les membres du 4èA** : Laure, Marie Pierre, Gorette, Isabelle, Peguy, Audrey, Christophe, Coco, Madly, Cyrielle, Anaïs, **les membres du 3èC** : Elise, Jocelyne, Marie, Marilyne, Danielle, Sandrine, Nasser**, les membres de l'HDJ** : Marie Pierre, Eric, **les anciens et actuels membres du 4èB** : Carole, Aurore, Alexia, Arielle, Olivier, Nadège, Sylvie, Christine, **les membres de l'endoscopie** : Séverine, Stéphanie, Paupau, Joelle, Thierry, Arnaud, Martine, Christelle, **les membres de l'HDJ2 (CAL)** : Yveline, Sophie, Agnès, Aurore, Stéphanie, **et aux nombreuses personnes que j'oublie probablement…**

Merci à nos chères diététiciennes: Evelyne, Katia et **à nos géniales assistantes sociales** : Edith et Marina

Merci aux secrétaires de l'Archet : Diane, Flo, Rosie, Grazzie, Elodie, Sandrine, Cathy, Corinne, Céline, Christine, Christelle, **et aux secrétaires du CAL** : Hélène, Carine, Jenny

A ma famille,

A mes parents, Jean et Françoise,
Je ne vous dirai jamais assez merci de votre soutien et de votre affection. Vous vous êtes toujours efforcés de me faciliter la vie. Je ne vous le dis pas souvent, mais je vous aime.

A la mémoire de ma mémé Yvette,
Je suis sûre que tu aurais aimé être là aujourd'hui.

A Thierry, qui remplit ma vie de bonheur depuis bientôt 8 ans, et qui a été d'une grande aide technique pour la rédaction de ce travail !

A mon bébé, Elise, qui donne un nouveau sens à ma vie depuis un peu plus de 4 mois…

A Pauline et Hadrien, qui me supportent en tant que belle-mère !

A ma famille drômoise et bretonne, que j'aimerais voir plus souvent
A mes tontons et taties : Jean, Suzanne, Georges, Pierre, Marie et René
A ma marraine: Marie Renée
A mes cousins germains : Pascale, Geneviève, Jean Pierre, Nadine, Hervé, Elisabeth et Catherine
A mes petits cousins pas si petits que ça d'ailleurs : Laurie, Loïc, Théo, Pierre, Charlotte, Sophie, Baptiste, Marion, Juliette, Valentin, Louise, Jules, Pierre et Hélène…

A mes amis,

A mes amis d'enfance qui me supportent depuis un quart de siècle et me prouvent tous les jours que l'amitié peut durer :
Aurélie, David, Marine, Manu, Nancy, Chris et Fabien, et **aux deux petits bouts qui viennent d'arriver**: Alanza et Kylian.

A mes potes de facs et de bodégas, qui ont rendu l'internat (et le post internat) tellement plus fun :
Steph, Ju, Amé, Sarah, Laureen, Claire, Patou, Marjo, Matt.

Etude comparative de la performance de marqueurs fécaux pour la prédiction de la réponse au traitement par infliximab dans la rectocolite hémorragique

Table des matières

I- Introduction…….. p.1

I-1- Caractéristiques épidémiologiques, cliniques et endoscopiques de la rectocolite hémorragique …… p.2

I-2- Traitements de la rectocolite hémorragique……..…… p.6

I-3- Quels sont les moyens de surveillance de l'activité de la maladie et de l'efficacité des traitements?..... p.9

I -3-1- La surveillance clinique ……..... p.9

I-3-2- La surveillance biologique……..... p.10

I-3-3- La surveillance endoscopique……... p.11

I-4- Vers la recherche de marqueurs d'activité non invasifs dans les MICI : les marqueurs fécaux …… p.13

I-4-1- La calprotectine fécale…… p.14

I-4-2- La Lactoferrine …… p.15

I-4-3- La M2PK……... p.16

I-4-4- La néopterine……... p.18

I-4-5- La zonuline……... p.20

I-5- Etat actuel des connaissances sur les marqueurs fécaux dans les MICI et en particulier dans la RCH …….... p.21

I-5-1- Le rôle des biomarqueurs fécaux dans le diagnostic des MICI ……... p.22

I-5-2- Le rôle des biomarqueurs fécaux dans l'évaluation de l'activité de la maladie……..... p.23

I-5-3- Le rôle des biomarqueurs fécaux dans la prédiction de la rechute …..... p.26

I-5-4- Le rôle des biomarqueurs fécaux dans la prédiction de la réponse au traitement à moyen et long terme ….…….... p.27

I-6- Rationnel et objectifs de l'étude ……..... p.29

II- Matériels et méthodes…….....** p.30

II-1- Population étudiée …… p.31

II-2- Suivi des patients …….. p.32

II-2-1- Suivi clinico-biologique ……..... p.32

II-2-2- Suivi endoscopique ……... p.33

II-3- Méthodes de recueil et dosage des marqueurs fécaux …….. p.34

II-3-1- Modalités de prélèvement……..... p.34

II-3-2- Méthodes d'extraction des selles……..... p.34

II-3-3- Méthodes de dosage des marqueurs……..……... p.35

II-4- Critères de jugements …….. p.37

II-5- Analyse statistique……..... p.38

III- Résultats …… p.40

III-1- Caractéristiques de l'échantillon ……..... p.41

III-1-1- Caractéristiques générales de la population étudiée……... p.41

III-1-2- Caractéristiques propres à la rectocolite hémorragique des patients inclus…... p.42

III-2- Réponse des patients au traitement par infliximab …… p.43

III-2-1- Réponse clinique au traitement d'induction (évaluée à S14) …… p.43

III-2-2- Réponse endoscopique au traitement d'induction (évaluée à S12) …… p.44

III-2-3- Réponse clinique à 1 an (52 semaines) ……... p.44

III-3- Valeurs et cinétique des concentrations des marqueurs fécaux au cours du traitement d'induction …….. p.46

III-3-1- Pour la calprotectine fécale …… p.46

III-3-2- Pour les autres marqueurs ……..... p.48

III-4- Corrélation entre la valeur basale des marqueurs fécaux et la réponse au traitement d'induction ……... p.52

III-4-1-Pour la calprotectine fécale ……..... p.52

III-4-2- Pour les autres marqueurs ……..... p.53

III-5- Relation entre la décroissance des taux de calprotectine entre S0 et S2 ou S6 et la réponse clinique au traitement d'induction …… p.54

III-6- Corrélation entre les taux de marqueurs fécaux à S2 et la réponse clinique au traitement d'induction …… p.55

III-7- Corrélation entre les taux de calprotectine fécale à S2 et la réponse endoscopique à S12 …… p.57

III-8- Corrélation entre les taux de marqueurs fécaux à S14 et la réponse clinique au traitement d'induction …….. p.59

III-9- Corrélation entre les taux de marqueurs fécaux à S14 et la réponse au traitement à 1 an (S52) …… p.60

III-9-1- Pour la calprotectine fécale……..... p.60

III-9-2- Pour les autres marqueurs ……..... p.62

III-10- Corrélations entre les différents marqueurs fécaux et les scores endoscopiques …. p.65

III-10-1- Pour la calprotectine fécale……... p.65

III-10-2- Pour les autres marqueurs…… p.66

III-11- Corrélations entre les différents marqueurs fécaux..……... p.67

<u>IV Discussion</u> ...…… p.68

<u>V Conclusion</u>……..... p.74

<u>Annexes</u> …… p.76

<u>Références</u> …… p.81

<u>Résumé</u> ……..……..... p.87

<u>Mots clés</u>…… p.90

<u>Serment d'Hippocrate</u>…….. p.91

Photos, Tableaux, Figures et Annexes

PHOTOS

Photo 1 : Lésions de RCH, muqueuse érythémateuse…… p.3

Photo 2 : Lésions de RCH, érosions muqueuses…….. p.4

Photo 3 : Lésions de RCH, ulcérations muqueuses…….. p.4

Photo 4 : Lésions de RCH, ulcérations creusantes…….. p.4

Photo 5 : Lésion de RCH, pseudo polypes……..... p.5

TABLEAUX

Tableau 1 : Présentation de différents paramètres utilisés pour l'extraction des marqueurs fécaux……..... p.35

Tableau 2 : Caractéristiques des kits ELISA utilisés pour le dosage des différents marqueurs fécaux……..... p.37

Tableau 3 : Caractéristiques générales des patients à l'inclusion…… p.41

Tableau 4 : Caractéristiques principales des RCH des patients inclus et thérapeutiques antérieures…… p.43

Tableau 5 : Devenir à 1 an des patients répondeurs cliniques ou non répondeurs au traitement d'induction…….…….. p.45

Tableau 6 : Cinétique d'évolution de la calprotectine fécale au cours du traitement d'induction, pour l'ensemble de la population…….…….. p.46

Tableau 7 : Cinétique d'évolution de la calprotectine fécale au cours du traitement d'induction chez les patients répondeurs et non répondeurs..…… p.47

Tableau 8 : Evolution des taux moyens et médians des marqueurs fécaux au cours du traitement d'induction, pour l'ensemble de la population…….... p.48

Tableau 9 : Evolution des taux moyens et médians des marqueurs fécaux au cours du traitement d'induction, pour les patients répondeurs et non répondeurs..…….. p.49

Tableau 10 : Résultats des analyses ANOVA chez les patients répondeurs et non répondeurs à l'induction, pour chaque marqueur fécal ……..... p.50

Tableau 11 : Caractéristiques des taux de calprotectine fécale à l'inclusion chez les

répondeurs et les non répondeurs…… p.53

Tableau 12 : AUC pour la performance des marqueurs à S0, à différencier les patients répondeurs ou non à S14…….. p.53

Tableau 13: Cinétiques des taux de calprotectine entre S0 et S2/S6 pour les patients répondeurs et non répondeurs…… p.55

Tableau 14: AUC pour la performance des marqueurs à S2, à différencier les patients répondeurs ou non à S14…….. p.56

Tableau 15 : Performance des différents marqueurs aux meilleurs seuils définis à S2 pour discriminer les patients répondeurs des non répondeurs au traitement d'induction…… p.56

Tableau 16 : Performance de la lactoferrine et de la M2PK combinées à S2 pour discriminer les patients répondeurs des non répondeurs au traitement d'induction…… p.57

Tableau 17 : Performance de la calprotectine, la lactoferrine et la M2PK à S2 pour la prédiction de la rémission endoscopique à S12…… p.58

Tableau 18 : Sensibilité et spécificité de la calprotectine fécale à S14, en fonction des différents seuils choisis, pour prédire la réponse clinique à S52…….. p.61

Tableau 19 : Performance des différents marqueurs aux meilleurs seuils définis à S14 pour discriminer les patients répondeurs des non répondeurs à un an (S52)…… p.64

Tableau 20 : Performance de la lactoferrine et du score de Mayo partiel combinés à S14, pour discriminer les patients répondeurs des non répondeurs à S52…….. p.64

Tableau 21 : Corrélations entre le score de Mayo partiel ou le sous-score endoscopique de Mayo et les taux de calprotectine fécale…… p.65

FIGURES

Fig 1: Risque cumulatif pour un patient atteint de RCH de développer un cancer colo rectal au fil du temps, en fonction de différentes méta analyses …….. p.6

Fig 2: Structure moléculaire des deux anti TNF alpha ayant l'AMM dans la RCH…….. p.8

Fig 3: Fonction de la pyruvate kinase dans la glycolyse…… p.17

Fig 4: Voie de synthèse de la néopterine…….. p.19

Fig 5: Description de la technique ELISA Sandwich…… p.36

Fig 6: Description de la technique ELISA par compétition…… p.36

Fig 7: Flow chart de notre échantillon …… p.45

Fig 8: Evolution des taux moyens et médians de calprotectine au cours de l'induction…… p.46

Fig 9: Concentrations en calprotectine fécale à S0 et S14 pour la population globale (médiane, extrêmes et quartiles)…….. p.46

Fig 10: Evolution des taux moyens et médians de calprotectine fécale au cours de l'induction chez les patients répondeurs et non répondeurs…….. p.47

Fig 11: Comparaison des taux de calprotectine fécale au cours du traitement d'induction chez les patients répondeurs et non répondeurs…….…… p.47

Fig 12: Evolution des taux médians des différents marqueurs fécaux au cours du traitement d'induction pour l'ensemble de la population…… p.48

Fig 13: Evolution des taux médians des marqueurs fécaux au cours du traitement d'induction pour les patients répondeurs et non répondeurs…….. p.50

Fig 14: Courbe ROC pour la capacité de la calprotectine fécale à S0 à prédire la réponse clinique à S14…… p.52

Fig 15: Différence entre les taux moyens de calprotectine fécale à l'inclusion chez les répondeurs et les non répondeurs…….. p.53

Fig 16: Moyennes des différents marqueurs à l'inclusion chez les patients répondeurs et non répondeurs……... p.54

Fig 17: Delta des taux de calprotectine entre S0 et S2 ou S6 chez les patients répondeurs et non répondeurs à l'induction…… p.55

Fig 18 : Courbes ROC des biomarqueurs fécaux à S6 ou 14 dans la distinction des patients avec une réponse/rémission ou en échec après traitement d'induction…….. p.59

Fig 19: Performance de la calprotectine fécale dosée à S14 pour identifier les patients en rémission clinique à S52……... p.61

Fig20: Courbe de survie montrant le taux de rechute des patients au fil du temps en fonction de la concentration de calprotectine fécale à S14…….. p.62

Fig 21: Performances des différents marqueurs fécaux à S14 pour prédire la réponse clinique à 1 an…… p.63

Fig 22: Corrélation entre l'UCEIS et la calprotectine fécale à S0 et S14…… p.65

Fig 23: Corrélation entre les scores endoscopiques (Mayo et UCEIS) et les marqueurs fécaux…… p.66

Fig 24 : Indices de corrélation de Spearman pour les différents marqueurs et la calprotectine fécale…… p.67

ANNEXES :

Annexe 1: Score de Mayo ou UC-DAI…… p.77

Annexe 2: Score de Truelove et Witts ……..…….. p.78

Annexe 3: Score de Lichtiger…… p.79

Annexe 4: Score UCEIS ……... p.80

Abréviations

RCH : Rectocolite Hémorragique

EPIMAD : Etude Prospective d'Incidence des MICI dans le Nord-Ouest de la France

MICI : Maladie Inflammatoire Chronique Intestinale

5-ASA : Acide 5-Aminosalicylique

TNF : Tumor Necrosis Factor

AMM: Autorisation de Mise sur le Marché

GETAID : Groupe d'Etude Thérapeutique des Affections Inflammatoires du Tube Digestif

AFSSAPS : Agence Française de Sécurité Sanitaire et des Produits de Santé

IV : Intra veineux

CRP : C Réactive Protein *(protéine C réactive)*

IL : Interleukine

VS : Vitesse de Sédimentation

UCDAI : Ulcerative Colitis DIisease Activity Index *(Score d'activité de la RCH)*

UCEIS: Ulcerative Colitis Endoscopic Index of Severity *(Score endoscopique de sévérité de la RCH)*

SFED: Société Française d'Endoscopie Digestive

LPS: Lipopolysaccharide

SDRA : Syndrome de Détresse Respiratoire Aigu

ADN : Acide désoxyribonucléique

ARN : Acide ribonucléique

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine

CMV : Cytomégalovirus

M2PK : M2 Pyruvate Kinase

ATP : Adénosine Triphosphate

ADP: Adénosine Diphosphate

GTP: Guanosine Triphosphate

PTPS: Pyruvoyl-tetrahydropterin synthase

IFN: Interferon

HP: Haptoglobine

EGF: Epidermal Growth Factor (Facteur de croissance épidermique)

SII: Syndrome de l'Intestin Irritable

Se: Sensibilité

Sp: Spécificité

VPP: Valeur Prédictive Positive

VPN: Valeur Prédictive Négative

SES CD : Simle Endoscopic Score for Crohn Disease *(Score endoscopique simplifié pour la maladie de Crohn)*

CDAI: Crohn Disease Activity Index *(Score d'activité de la maladie de Crohn)*

ROC: Receiver Operating Characteristic *(Caractéristique de performance d'un test)*

ELISA: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (dosage d'immunoabsorption par enzyme liée)

AUC: Area Under the Curve *(Aire sous la courbe)*

IMC: Indice de Masse Corporelle

IFX: Infliximab

fCal : Calprotectine fécale

fNeo : Néopterine fécale

fLact : Lactoferrine fécale

fZonu : Zonuline fécale

SEM : Standard Error of the Mean *(Erreur standard de la moyenne)*

IQR: Inter Quartile Range *(Intervalle inter quartiles)*

ANOVA: ANalysis Of Variance *(Analyse de la variance)*

IC95%: Intervalle de Confiance à 95%

I- INTRODUCTION

I-1-Caractéristiques épidémiologiques, cliniques et endoscopiques de la rectocolite hémorragique

La rectocolite hémorragique (RCH) fait partie des maladies inflammatoires chroniques intestinales (MICI), comme la maladie de Crohn avec laquelle elle présente des caractéristiques et des thérapeutiques communes.

En France, d'après le registre EPIMAD qui enregistre depuis une vingtaine d'années les nouveaux cas de MICI, l'incidence de la RCH serait de 4,4 cas /100 000 habitants/an (1). Ce chiffre apparait un peu plus élevé pour la maladie de Crohn contrairement aux autres pays européens où la tendance est inversée. La prévalence estimée de la RCH, calculée approximativement à partir des chiffres d'incidence, serait de 60 cas/100 000 habitants, ce qui correspondrait à un nombre d'environ 40 000 malades actuellement sur le territoire. Au plan épidémiologique, la RCH se différencie également de la maladie de Crohn par l'absence de gradient nord/sud, avec une répartition relativement homogène sur tout le territoire. Concernant la distribution de la maladie selon le sexe, la RCH atteint légèrement plus les hommes (sex ratio F/H=0,8). Enfin, en ce qui concerne l'âge de survenue, il existe un pic de fréquence chez les adultes jeunes (25/30 ans), mais on constate également des formes de l'enfant et du sujet plus âgé (2) .

Comme son nom l'indique, la RCH consiste en une atteinte inflammatoire de la muqueuse recto-colique, respectant toujours les couches plus profondes de la paroi intestinale. Cette atteinte est constante au niveau du rectum, et peut s'étendre plus ou moins haut de façon ascendante le long du colon, mais toujours de manière continue et épargnant le reste du tube digestif. Ces lésions sont dues à une activation inappropriée du système immunitaire contre la muqueuse recto-colique. La physiopathologie de la RCH, comme celle de la maladie de Crohn comporte des zones d'ombre : une participation génétique est certaine, avec plusieurs gènes de susceptibilité identifiés ces dernières années, mais il s'agit vraisemblablement d'une maladie multifactorielle. Des facteurs environnementaux participent au développement de la pathologie tels que l'alimentation, l'hygiène, le tabagisme (3). Un déséquilibre du microbiote intestinal a été mis en évidence chez les patients porteurs de MICI, et fait l'objet d'un certain nombre d'études (4). L'évolution dans le temps est caractérisée par des périodes de poussées entrecoupées de périodes de rémission plus ou moins longues. Au plan anatomique, une maladie distale peut s'étendre au fil du temps vers le colon d'amont, puisque un patient sur deux présentera une pancolite après 20 ans d'évolution de sa maladie, contre un sur quatre au

moment du diagnostic. Une autre forme possible de la maladie est une évolution sur un mode « chronique actif », dans 10% des cas, avec une symptomatologie permanente accompagnée de possibles exacerbations.(2)

Au plan clinique, le tableau d'une maladie active est classiquement celui d'un syndrome dysentérique avec des diarrhées glairo-sanglantes, parfois afécales, des douleurs abdominales, et une altération de l'état général. Une atteinte rectale sévère peut entrainer une symptomatologie avec épreintes et ténesmes, voire parfois une incontinence fécale (syndrome rectal).

Au plan macroscopique, les lésions visualisées sont les suivantes, constituant la base des scores de sévérité endoscopique et notamment du score de Mayo (Annexe 1). Ainsi, par ordre de sévérité croissant, on retrouve :

- une muqueuse érythémateuse, dépolie, granitée, fragile saignant au contact avec atteinte de la trame vasculaire qui peut être diminuée jusqu'à disparition totale. (Photo 1)

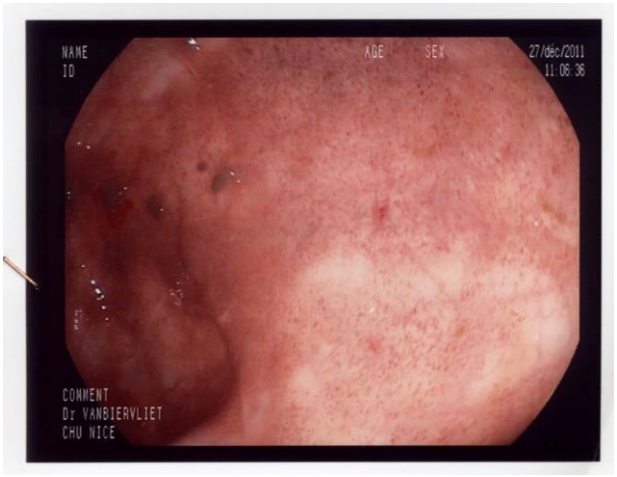


Photo 1: Lésions de RCH correspondant à un score de Mayo 1 : on visualise l'aspect érythémateux de la muqueuse, ainsi que l'atténuation de la trame vasculaire

- des érosions (Photo 2), puis des ulcérations superficielles plus ou moins larges qui peuvent par la suite devenir creusantes dans les formes les plus sévères (Photo 3 et 4).

Photo 2 : Lésions de RCH correspondant à un score de Mayo 2: on peut noter la disparition complète de la trame vasculaire, accompagnée de nombreuses érosions.

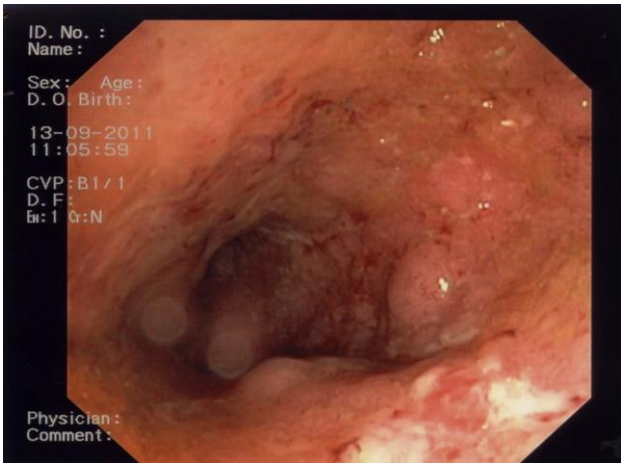


Photo 3 : Lésions de RCH correspondant à un score de Mayo 3: visualisation d'ulcérations en bas à droite de la photo, avec une muqueuse très érythémateuse comportant des zones de saignements spontanés.

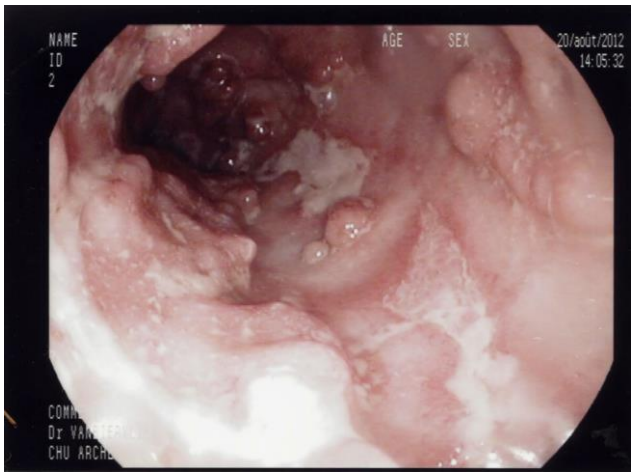


Photo 4: Lésions de RCH faisant suite à une poussée sévère et correspondant à un score de Mayo 3: on peut remarquer la présence de zones où la musculeuse a été mise à nu en raison d'ulcérations creusantes.

- A ces éléments qui signent une maladie active, peuvent s'ajouter des aspects de maladie ancienne avec cicatrices muqueuses, pseudo polypes (Photo 5), transformations carcinomateuses…

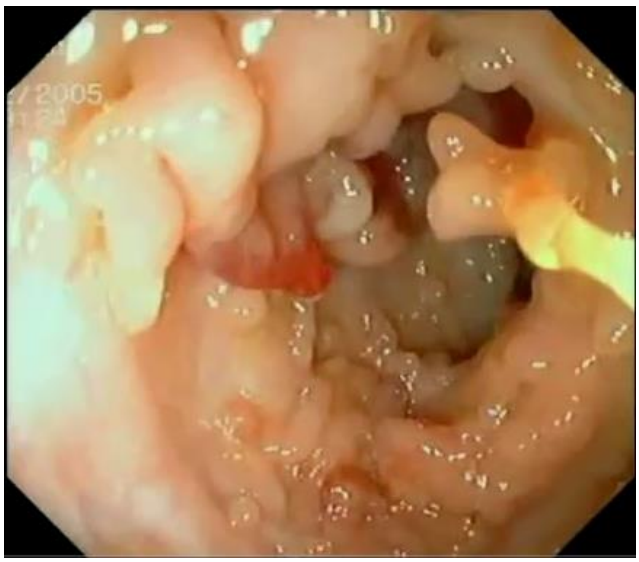


Photo 5: Aspect typique de pseudo polypes envahissant la lumière colique chez un patient présentant une RCH ancienne.

En dehors de la gêne occasionnée par les symptômes, retentissant de façon majeure sur la qualité de vie, la RCH est parfois à l'origine de complications sévères. La colite aigüe grave est la complication la plus redoutée et concerne environ 15% des patients : elle engendre un risque hémorragique, de perforation, et de péritonite. Le risque de décès lié à une colite aigüe grave existe encore de nos jours, mais n'excède pas les 2 % grâce notamment aux progrès réalisés dans la codification de la prise en charge. Le traitement premier d'une colite aigüe grave, en l'absence de signe d'alarme indiquant une prise en charge chirurgicale d'emblée, est d'abord médical. Cependant, le recours à la chirurgie reste nécessaire (colectomie subtotale avec réalisation d'une iléo-sigmoïdostomie) dans presque 30% des cas, avec toute la morbidité qu'elle engendre. (5)

A long terme, la RCH représente également un facteur de risque avéré de cancer colorectal. Ainsi, son incidence n'est pas plus importante que dans la population générale avant 8 à 10 ans d'évolution, mais semble augmenter rapidement par la suite, imposant alors une surveillance endoscopique régulière des malades. Il faut savoir que le risque de présenter une néoplasie sera d'autant plus élevé que la maladie est étendue, qu'une cholangite sclérosante primitive est associée ou qu'il existe un antécédent familial. Les chiffres divergent cependant selon les études (Fig 1): la méta analyse la plus récente de Jess el al, avec un suivi moyen de 14 ans, retrouve une incidence de cancer colorectal dans la RCH de 0,4% après 10 ans d'évolution et de 1,1 à 5,3% après 20 ans, soit un risque 2,4 fois plus élevé que dans la population générale (6).

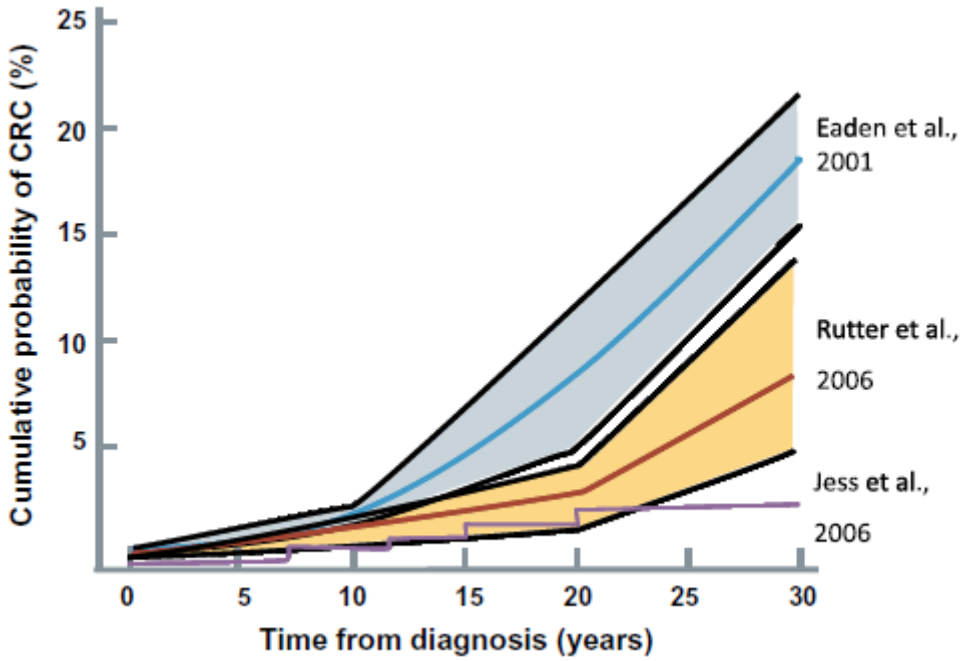


Figure 1 : Risque cumulatif pour un patient atteint de RCH de développer un cancer colo rectal au fil du temps, en fonction de différentes méta analyses **(7)**

I-2- Traitements de la rectocolite hémorragique

A la vue de ces éléments, on peut aisément comprendre l'importance de trouver des thérapeutiques efficaces pour juguler la maladie et prévenir les complications. Comme le sous-tend la physiopathologie de la RCH, les différents traitements utilisés auront tous une action au niveau de la cascade inflammatoire ou du système immunitaire.

Lorsqu'on prend en charge une RCH, il faut distinguer le traitement des poussées de la maladie, et le traitement de fond, dont l'objectif sera de maintenir les patients en rémission au long cours.

Le traitement des poussées varie selon l'étendue des lésions et leur intensité. Au sein de l'arsenal thérapeutique, on dispose donc des dérivés de l'acide 5-aminosalicylique (5 ASA), par voie orale ou topique, des corticoïdes (topiques ou systémiques), de l'infliximab, et de la ciclosporine. Le recours aux traitements intra veineux, c'est-à-dire aux corticoïdes, puis à l'infliximab ou la ciclosporine, est réservé aux poussées sévères et aux colites aigües graves. Les corticoïdes, de par les effets secondaires qu'ils engendrent à moyen et long terme, ne peuvent absolument pas être envisagés comme des traitements d'entretien : en cas de cortico-dépendance (définie comme une recrudescence des

symptômes à l'arrêt ou à la décroissance d'une corticothérapie), il convient d'introduire un traitement d'entretien efficace.

En dehors des anti TNF alpha, les traitements de fond classiquement utilisés sont : les dérivés du 5 ASA, à posologie plus faible que pour le traitement des poussées (dose minimale efficace) et dans un contexte de maladie localisée et/ou peu sévère. Les thiopurines (azathioprine et 6 mercaptopurine), qui sont des agents immunosuppresseurs anciens, sont également des traitements de fond efficaces de la RCH (comme le prouve une méta analyse récente de la Cochrane database (8)): Ils trouvent leur place dans des formes plus sévères et/ou cortico-dépendantes. Quant au méthotrexate, son efficacité n'a pas encore été formellement démontrée dans la RCH, en raison de résultats discordants et du manque d'études randomisées(9). Une étude prospective multicentrique du GETAID (Groupe d'Etude Thérapeutique des Affections Inflammatoires du tube Digestif), comparant le méthotrexate au placebo dans la RCH corticodépendante devrait bientôt nous donner des éléments objectifs sur l'intérêt de ce traitement dans la RCH.

Depuis quelques années, la prise en charge de la RCH a été modifiée par l'avènement d'une nouvelle classe thérapeutique : les anti TNF alpha. Deux molécules ont actuellement l'AMM pour le traitement de la RCH : l'infliximab (suite aux études ACT 1 et 2 (10)), et depuis peu, l'adalimumab (Etudes ULTRA 1 (11) et 2 (12)).

La molécule qui fait l'objet de notre étude est l'infliximab (IFX) : il s'agit d'un anticorps monoclonal IgG1k chimérique, composé d'une chaîne constante humaine (75% de la molécule) et de régions variables murines (25% de la molécule) (Fig 2). Il neutralise l'activité biologique du TNF-a soluble et transmembranaire en le liant avec une haute affinité et en l'empêchant de se lier à ses récepteurs (10). Il faut savoir que le TNF alpha est une cytokine pro-inflammatoire jouant un rôle clé dans la pathogénie des MICI, qui est caractérisée par un phénotype Th1.

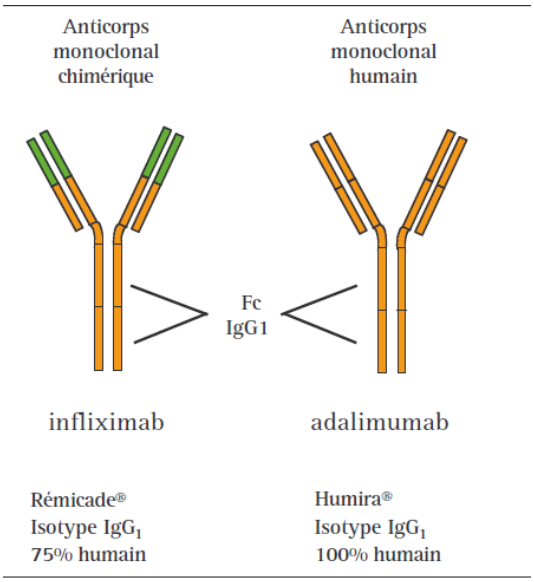


Fig 2 : Structure moléculaire des deux anti TNF alpha ayant l'AMM dans la RCH.

Ainsi, dans les études princeps, l'infliximab a démontré une supériorité par rapport au placebo pour la mise en rémission à la semaine 8 (S8) et le maintien de celle-ci. L'infliximab était également plus efficace en termes de cicatrisation muqueuse endoscopique, de sevrage des corticoïdes à S30, de qualité de vie et de réduction du nombre d'hospitalisations. En conséquence, l'infliximab est indiqué dans : « la RCH active, modérée à sévère chez les patients qui n'ont pas répondu de manière adéquate à un traitement conventionnel comprenant les corticoïdes et l'azathioprine ou la 6-mercaptopurine, ou chez lesquels ce traitement est mal toléré ou contre-indiqué. » (Intitulé de l'AMM du médicament). Plus récemment, une étude française multicentrique du GETAID a démontré que l'infliximab avait une efficacité superposable à celle de la ciclosporine dans la colite aiguë grave, en faisant également un traitement d'urgence (13).

La mise en place d'un traitement par infliximab nécessite la réalisation d'un bilan pré-thérapeutique rigoureux, consistant notamment à exclure le risque d'infection active ou latente, en particulier la tuberculose. L'Afssaps a d'ailleurs émis en 2005 des recommandations à ce sujet, consultables sur internet (A). Par la suite, le mode d'administration recommandé dans l'AMM est le suivant :

- une phase d'induction : infliximab à la dose de 5 mg/kg intra veineux (IV) à S0, puis à S2 et S6.

- une phase d'entretien : infliximab à la dose de 5 mg/kg IV toutes les 8 semaines.

I-3- Quels sont les moyens de surveillance de l'activité de la maladie et de l'efficacité des traitements ?

Le suivi d'une RCH est fondamental : il consiste à estimer l'activité et l'extension de la maladie au fil du temps, à dépister des complications et surtout à évaluer l'efficacité des traitements mis en place. Ainsi, les patients traités par infliximab doivent être d'autant plus surveillés qu'ils présentent par définition, une maladie modérée à sévère. Cette surveillance est rapprochée dans les premières semaines et les premiers mois de traitement, puis espacée par la suite en cas d'évolution favorable. Jusqu'à présent, aucune méthode de surveillance ne s'est avérée parfaite, c'est-à-dire à la fois performante, peu invasive, peu coûteuse, et reproductible. De nos jours, les cliniciens pratiquent donc une surveillance multimodale de leurs patients, s'aidant de la clinique, de divers marqueurs biologiques et de l'endoscopie.

I -3-1- La surveillance clinique

La surveillance d'une RCH passe toujours par un interrogatoire avec recherche de symptômes évoquant une maladie active. Or, la majorité des signes cliniques retrouvés dans la maladie n'en sont absolument pas spécifiques. Ainsi, des douleurs abdominales alléguées chez un malade présentant une authentique RCH ne seront pas forcément une manifestation d'activité de la pathologie : il peut s'agir de troubles fonctionnels intestinaux, très fréquents dans cette population, ou plus rarement de douleurs extra coliques voire extra digestives. L'intensité des douleurs est un élément par ailleurs très subjectif, difficile à évaluer au fil du temps chez un même malade, et encore plus difficile à comparer chez plusieurs individus. De même, la présence de sang dans les selles peut être d'origine hémorroïdaire, un syndrome rectal peut être rapporté à une microrectie (en cas de maladie ancienne), et non à des lésions actives.

L'examen physique est quant à lui souvent assez pauvre, sauf en cas de complication où les signes deviennent plus bruyants (signes d'irritation péritonéale en cas de péritonite).

Ainsi, la non spécificité des symptômes et leur caractère subjectif, surtout en ce qui concerne l'évaluation des douleurs, fait de la clinique un instrument très imparfait de l'évaluation de l'activité de la maladie.

Malgré cela, afin d'homogénéiser les évaluations cliniques dans le cadre des essais, et par extension dans la pratique quotidienne, divers scores cliniques ou clinico-biologiques ont été conçus. Aucun de ces scores n'a toutefois été validé dans une large étude prospective. Seules deux études récentes (14),(15) de méthodologie discutable et de faible effectif (61 et 74 patients respectivement) ont évalué spécifiquement la performance de différents scores cliniques à estimer l'activité de la maladie. Dans les études évaluant plusieurs outils (biologiques et cliniques), les scores cliniques d'activité ne sont en général pas les items présentant la meilleure corrélation avec les scores de sévérité endoscopiques, qui constituent le gold standard pour une évaluation objective de la sévérité de la maladie(16).

Les scores les plus utilisés dans la pratique clinique sont :

- Le score de Truelove et Witts (Annexe 2), décrit en 1955 pour évaluer l'efficacité de la corticothérapie dans les poussées de RCH (17), prend en compte le nombre de selles par jour, la température, la fréquence cardiaque, le taux d'hémoglobine et la VS. Il est surtout encore utilisé à l'heure actuelle pour la définition d'une colite aigüe grave.
- Le score de Lichtiger (Annexe 3) (créé en 1994 pour les besoins d'un essai montrant l'efficacité de la ciclosporine dans les colites aigues graves (18)), permet de suivre des modifications cliniques légères, et est réalisable très rapidement dans la pratique quotidienne.
- Le sous-score clinique de Mayo (score de Mayo partiel) (Annexe 1), plus récent et également simple à utiliser en pratique clinique quotidienne.

I-3-2-La surveillance biologique

Les paramètres biologiques les plus utilisés comme moyens de surveillance de l'activité des MICI sont les marqueurs sériques d'inflammation, avec en particulier la protéine C réactive (CRP).

Nous rappelons que la CRP est une protéine synthétisée par le foie pendant la phase aigüe de l'inflammation, suite à la production de diverses chimiokines dont l'interleukine (IL) 6, l'IL-1 β et le TNF alpha. Elle agit en activant la cascade du complément. Sa demi vie courte (19h), ainsi que la capacité du foie à augmenter rapidement sa production en cas de réaction inflammatoire, en font un instrument utile dans le suivi de nombreuses pathologies où une cascade d'inflammation est engagée (19).

Ainsi, la CRP est un paramètre biologique fréquemment dosé pour le suivi des maladies inflammatoires intestinales. Pourtant, dans les RCH actives, on retrouve des taux de CRP souvent inférieurs à ceux observés dans la maladie de Crohn en poussée. Ce phénomène est mal expliqué, avec deux hypothèses principales émises, qui sont : le caractère non transmural de l'inflammation dans la RCH, et l'élévation moindre d'IL6 dans le sang en comparaison à ce que l'on constate dans la maladie de Crohn (20) . Dans la RCH, plusieurs travaux (notamment une publication de 2005 de la Mayo Clinic, portant sur 43 patients (21)) retrouvent une association positive entre le taux de CRP et l'activité de la maladie. Pourtant, nombreuses sont les études qui mettent en évidence des facultés très moyennes de la CRP à évaluer l'activité de la maladie : on y retrouve des coefficients de corrélation médiocres avec les scores d'activité endoscopique (16,22-24). De même, la CRP est un mauvais marqueur pour prédire le risque de colectomie (24), ou de rechute (25). En revanche, l'étude de la cinétique de cette protéine au cours d'une thérapie peut donner des informations sur l'efficacité du traitement(26).

D'autres paramètres biologiques fréquemment dosés ne sont absolument pas spécifiques de l'inflammation, et constituent de mauvais marqueurs d'activité de la maladie : la VS (20),(23)((27), le taux de leucocytes, l'hématocrite, ou l'albumine.

I-3-3-La surveillance endoscopique

L'endoscopie basse est un examen indispensable dans la prise en charge d'une RCH : elle prend place dans toutes les étapes de la maladie.

- Il s'agit avant tout d'un examen diagnostic majeur. En effet, devant des signes cliniques évocateurs de RCH, une coloscopie est réalisée. Elle permet à la fois de visualiser les lésions muqueuses typiques, d'évaluer l'extension de la maladie et l'intensité des lésions (scores endoscopiques de sévérité). Les biopsies réalisées au cours de l'examen conforteront le diagnostic, ou au contraire, orienteront le clinicien vers des diagnostics différentiels (colite ischémique, infectieuse, maladie de Crohn…)

- Au-delà du diagnostic, la coloscopie est fondamentale pour la surveillance de la maladie. Elle permet d'estimer assez objectivement la sévérité de celle-ci, puisque le clinicien se place directement au niveau du siège de l'atteinte de la RCH. Les lésions décrites sont les signes direct de la maladie, contrairement aux symptômes cliniques qui sont impactés par le ressenti du patient et contrairement aux marqueurs sériques qui sont le reflet d'un état inflammatoire systémique. Ainsi, le caractère imparfait de ces divers examens de

surveillance fait de l'endoscopie le référentiel pour l'évaluation de la sévérité de la maladie. Les travaux présentant une bonne méthodologie et testant de nouveaux marqueurs utilisent quasi systématiquement l'endoscopie comme gold standard (16).

Des scores d'activité ont également été élaborés à des fins expérimentales, mais commencent à se démocratiser dans la pratique quotidienne. Le plus connu est le score de Mayo ou UCDAI (Ulcerative Colitis Disease Activity Index, Annexe 1), qui comporte également des données cliniques. Un nouveau score, validé prospectivement par un groupe d'experts internationaux, a fait son apparition récemment : il s'agit de l'UCEIS (Ulcerative Colitis Endoscopic Index of Severity, Annexe 4), qui devrait devenir dorénavant la référence dans les études. Ce score, composé de trois facteurs endoscopiques reproductibles (trame vasculaire, saignement, ulcération) est prédictif de la sévérité endoscopique globale, avec une bonne concordance inter-observateurs et une concordance intra-observateur acceptable (28).

- La place de l'endoscopie est également fondamentale dans le suivi de la réponse aux traitements. En effet, les études ACT 1 et 2, qui ont validé l'indication de l'infliximab dans la RCH se sont basées sur le score de Mayo pour définir la réponse clinique et endoscopique (10). Bien qu'il n'existe aucune recommandation dans cette situation, de nombreuses équipes réalisent une endoscopie (courte ou longue) avant la mise en place d'une nouvelle thérapeutique, et à distance pour en évaluer l'efficacité.

- Enfin, la coloscopie constitue l'examen de dépistage de référence du cancer colorectal. Dans la RCH, quels que soient les symptômes allégués ou les traitements entrepris, il est recommandé par la SFED (Société Française d'Endoscopie Digestive) de réaliser systématiquement une coloscopie de dépistage à partir de 8 ans d'évolution de la maladie en cas de pancolite ou à partir de 15 ans en cas de colite gauche. La surveillance doit être poursuivie ensuite: tous les 3 ans entre 10 et 20 ans, tous les 2 ans entre 20 et 30 ans, puis annuelle après 30 ans d'évolution.

On se rend donc bien compte qu'un patient atteint de RCH bénéficiera au cours de sa vie de nombreux examens endoscopiques. Or, la multiplication de ces examens présente un coût non négligeable et un caractère contraignant pour les malades, de par le temps incompressible qu'ils doivent y consacrer (inclus le temps de la préparation), le caractère invasif du geste, la pénibilité de la préparation, et le stress engendré.

Par ailleurs, bien qu'elles demeurent assez rares, des complications sont possibles au cours d'une endoscopie basse : en dehors du risque anesthésique, qui dépend beaucoup

de l'état de santé du malade, il faut considérer le risque de perforation, qui est variable selon les études mais parait néanmoins faible entre 0,2 et 1% sur les travaux récents (29). Une large étude rétrospective néerlandaise publiée en 2007, portant sur plus de 30 000 actes retrouvait même un taux de perforation de 0,12% toutes causes confondues (30). Le risque est bien sûr plus important en cas de coloscopie complète, de colon pathologique et en cas d'acte thérapeutique.

C'est pour l'ensemble de ces raisons que de nos jours, on s'efforce de trouver d'autres marqueurs d'activité de la RCH, qui doivent être performants, reproductibles, peu coûteux et peu invasifs, permettant ainsi de limiter les coloscopies itératives.

I-4- Vers la recherche de marqueurs d'activité non invasifs dans les MICI: les marqueurs fécaux

Ces dernières années, de nombreuses équipes se sont intéressées au dosage dans les fèces de patients porteurs de MICI, de plusieurs types de protéines connues pour être présentes sur des sites sièges d'inflammation et plus ou moins impliquées dans le processus de réaction inflammatoire. Le but de ces études était de trouver des marqueurs non invasifs, reflétant le degré d'inflammation locale du tube digestif, le rationnel étant que plus la concentration de la protéine est élevée, plus le degré d'inflammation est important. Ces marqueurs se distinguent des paramètres biologiques précédemment étudiés, qui sont, comme nous l'avons vu, principalement sériques, et qui reflètent plutôt le degré d'inflammation systémique. Nous savons par exemple que dans la RCH, et à un moindre degré dans la maladie de Crohn, la CRP peut être normale, y compris lors de poussées sévères de la maladie. Nous rappelons que l'une des hypothèses expliquant ce phénomène dans la RCH est le caractère non transmural de l'atteinte digestive, qui impacterait moins les taux des marqueurs sériques. On comprend donc aisément l'intérêt d'étudier les marqueurs fécaux dans les MICI, et la RCH en particulier.

Afin de comprendre le rationnel qui a orienté les études vers ces diverses protéines, il convient de rappeler leur origine et leurs fonctions biologiques.

I-4-1- La calprotectine fécale

Il s'agit du marqueur fécal le plus étudié au cours des MICI. La calprotectine fait partie de la famille des protéines S100, qui compte 22 membres. Leur nomenclature est liée à leur propriété de solubilité dans des solutions de sulfate d'ammonium à 100%. Ce sont de petites protéines de faible poids moléculaire (entre 9 et 14 kDa) caractérisées par la présence de deux sites de fixation pour le calcium (dits « EF Hand »), séparés par une région charnière. Les fonctions biologiques de ces protéines sont partiellement liées à leur capacité à former des dimères (homo ou hétéro dimère). Ainsi les protéines S100A8 et S100A9 forment un hétéro dimère, la protéine S100A8/9 ou calprotectine (31) , (B).

Les fonctions exercées par S100A8/9 semblent à la fois nombreuses, mais encore mal connues. Il semble néanmoins que la calprotectine, ainsi que les autres protéines de la famille S100, aient un rôle important dans la réaction inflammatoire: l'induction de l'expression de ces protéines se fait principalement par des stimuli pro-inflammatoires (lipopolysaccharide (LPS), TNF-α, IL-1β) et peut être diminuée par des cytokines anti-inflammatoires (IL-4, IL-13) (B).

Dans le secteur intra cellulaire, la calprotectine est majoritairement retrouvée dans le cytosol des polynucléaires neutrophiles et des monocytes. En revanche, elle n'est pas présente dans les macrophages au sein des tissus (disparition de son expression lors de la différenciation monocyte/macrophage), sauf en cas d'inflammation aiguë ou chronique où des stimuli en maintiendraient l'expression et la « ré induiraient ». Ainsi, elle représente 45% des protéines cytosoliques des neutrophiles. La calprotectine serait donc impliquée, au sein du milieu intracellulaire, dans plusieurs phénomènes:

- le transport de l'acide arachidonique (facteur pro inflammatoire) (B),
- l'activation de la NADPH oxydase, une enzyme responsable de l'activité microbicide des neutrophiles et des macrophages (B),
- les modifications du cytosquelette, fondamentales dans les mécanismes de mobilité, d'adhésion et de phagocytose.(31),(B).

La calprotectine peut également être présente dans le secteur extra cellulaire. En effet, à la suite de l'activation des neutrophiles et des monocytes par un processus inflammatoire, les protéines S100A8 et S100A9, sont transportées du cytosol à la membrane cellulaire et excrétées à l'extérieur des cellules. Les fonctions supposées de S100A8/9 au sein du milieu extra cellulaire sont issues de résultats d'études in vitro, sachant que pour l'instant aucun récepteur de la calprotectine n'a été clairement identifié :

- rôle dans la migration des monocytes de la circulation vers les tissus (la calprotectine favoriserait l'adhésion des monocytes à l'endothélium, puis leur passage dans les tissus par une augmentation de la perméabilité de la barrière endothéliale) (31), (B),
- probable effet chimiotactique pour les neutrophiles et les monocytes (B),
- stimulation de la production de monoxyde d''azote (NO) et de cytokines pro-inflammatoires telles que le TNF-α par les monocytes et macrophages, (B).

Ainsi, la calprotectine peut être retrouvée à de fortes concentrations dans les liquides biologiques de patients atteints de diverses pathologies infectieuses ou inflammatoires :
- dans le sérum de patients souffrant de maladies de système: lupus érythémateux disséminé, maladie de Kawasaki…(31)
- dans le liquide synovial de patients présentant une polyarthrite rhumatoïde, un rhumatisme psoriasique, une arthrite idiopathique juvénile, ou une crise de goutte (31).
- dans le liquide broncho-alvéolaires de patients atteints de syndrome de détresse respiratoire aigüe (SDRA). (B)
- dans des abcès provoqués de façon expérimentale chez la souris. (B)
- et enfin dans le cadre de notre sujet, dans les selles de patients atteints de RCH et de maladie de Crohn. (31),(B).

I-4-2- La Lactoferrine

La lactoferrine est une glycoprotéine de 80 KDa environ appartenant à la famille des transferrines, puisqu'elle possède deux sites de fixation pour le fer (sous forme d'ions ferriques). Sa structure tridimensionnelle comprend deux lobes globulaires liés par une courte hélice alpha. A l'intérieur de chaque lobe, se situe le site de fixation du fer. (32)

La lactoferrine est présente dans le milieu extra cellulaire, au sein de multiples liquides biologiques, car synthétisée en continu par la majorité des épithélia glandulaires. On la retrouve donc dans le lait (où elle a été découverte et d'où elle tire son nom), les larmes, la salive, la bile, les sécrétions d'organes reproducteurs, le tractus gastro intestinal et les selles (32,33).

Dans le milieu intra cellulaire, c'est également un composant majeur des granules secondaires des polynucléaires. Les autres cellules hématopoïétiques, comme les monocytes ou les lymphocytes, n'en contiennent pas. Lors d'une réaction inflammatoire, on assiste au processus de dégranulation des neutrophiles avec une forte accumulation

de la protéine sur le lieu de l'inflammation, et à moindre ampleur, dans le sérum (32). De ces constatations, découle l'intérêt de doser cette protéine dans les fluides corporels pour en faire un nouveau marqueur d'inflammation.

Les fonctions de la lactoferrine sont nombreuses :

- une fonction principale antimicrobienne (contre les bactéries, virus, parasites, champignons et prions). La lactoferrine présente une activité à la fois bactériostatique et bactéricide. L'action bactériostatique passe par un mécanisme de séquestration du fer, nécessaire à la survie bactérienne. L'activité bactéricide, quant à elle, passe par la fragilisation de l'enveloppe bactérienne (via la fixation de la lactoferrine au LPS et à d'autres protéines bactériennes) (32-34). La lactoferrine présenterait également une action anti virale, en inhibant l'entrée au sein des cellules de virus à ADN ou ARN, et la réplication de certains d'entre eux (virus des hépatites, VIH, herpès, CMV…) (32,34).

- La lactoferrine intervient également dans la modulation de la réaction inflammatoire. Elle exerce en effet une activité pro inflammatoire par le biais de l'induction de la production d'IL18, qui stimule la maturation et la différenciation des cellules T vers un profil TH1. Elle augmente par ailleurs l'activité phagocytaire des leucocytes (32). L'activité anti inflammatoire de la lactoferrine s'exerce via des interactions complexes avec des récepteurs à la surface des cellules immunitaires et épithéliales : elle module la production de cytokines, donc indirectement le recrutement des cellules immunitaires au site inflammatoire. Ainsi, des études ont mis en évidence une diminution de la production de TNF alpha et d'IL1beta, avec une augmentation de l'IL 10, aboutissant à une diminution du recrutement des leucocytes sur le site concerné (32).

- Bien que l'on s'écarte un peu de notre sujet, il est néanmoins intéressant de noter que de nombreuses études portent sur l'activité anti tumorale de la lactoferrine. Celle-ci s'exercerait via plusieurs mécanismes: activité immunomodulatrice, inhibition de l'angiogenèse, régulation de la croissance cellulaire, promotion de l'apoptose (32).

I-4-3- La M2PK

La pyruvate kinase (PK) est une enzyme clé de la voie de la glycolyse, constitutionnelle de l'ensemble des cellules. Selon les types cellulaires, on la retrouve sous la forme de 4 isoenzymes : L (liver), R (red blood cells), M1 (pour la plupart des

cellules différenciées) et M2. La M2PK est présente de façon ubiquitaire au stade embryonnaire et est progressivement remplacée par les isoformes spécifiques des tissus durant le développement. Elle est également retrouvée à l'âge adulte dans toutes les cellules en division rapide.

La fonction principale de la M2PK est de participer à la production d'énergie : elle se positionne au bout de la voie de la glycolyse et permet la transphosphorylation du phosphoénolpyruvate vers l'adénosine diphosphate (ADP) pour produire à la fois du pyruvate (qui deviendra lactate) et de l'adénosine triphosphate (ATP), source énergétique majeure de la cellule (Fig 3).

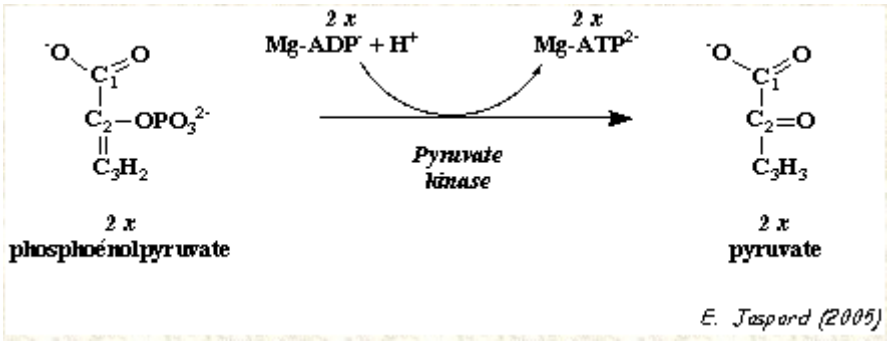


Figure 3 : Fonction de la pyruvate kinase dans la glycolyse

Le site catalytique ne représente qu'une petite partie de l'enzyme, tandis que la partie «conformationnelle» est grande, augmentant les possibilités d'interaction et de régulation de la protéine. Ainsi, la M2PK active est usuellement un homotetramère, composée de 4 sous unités identiques, tandis que la forme inactive est un dimère(35). L'activité de la M2PK est donc régulée par deux mécanismes différents: le niveau d'expression de la protéine, et sa conformation allostérique (35).

Même si la fonction originelle de la M2PK est de cataboliser le glucose, elle est impliquée dans beaucoup d'autres fonctions non glycolytiques, qui la placent au carrefour de voies de signalisation complexes. Ainsi, elle intervient dans la régulation du cycle cellulaire (35) : il faut savoir qu'une cellule en division présente des besoins énergétiques mais doit aussi bénéficier de métabolites intermédiaires de la glycolyse pour servir à la fabrication d'acides nucléiques, d'acides aminés et de lipides. Ainsi, la forme tétramérique de la M2PK permet la production d'énergie via l'ATP, tandis que la forme dimérique inactive permet l'accumulation des métabolites intermédiaires à des fins de synthèse cellulaire. De ce fait, quand la cellule est en situation de besoin anabolique (faible taux de précurseurs), la M2PK passe de sa forme tétramérique à sa forme dimérique inactive, et inversement si les taux de précurseurs sont élevés (35). Ces phénomènes sont régulés

par de nombreux signaux, la M2PK interagissant avec une diversité d'hormones et facteurs de croissance (35).

La M2PK, qui est présente dans les cellules en division rapide, est retrouvée au sein de sites inflammatoires, par le biais du recrutement et de la multiplication des cellules immunitaires sur le lieu concerné (35). C'est pourquoi le taux de M2PK sérique et dans les fèces a été étudié dans le contexte des MICI et de la RCH en particulier.

Il est également intéressant de savoir que la M2PK joue un rôle dans l'oncogenèse par le biais d'une interaction prouvée avec la voie de raf kinase (voie importante de la prolifération et la différenciation cellulaire). Ainsi, la mutation a-raf donne le pouvoir à cette kinase de réactiver la tétramérisation de M2PK pour relancer la glycolyse et donc, la production d'énergie (35). La présence de l'enzyme sous sa forme dimérique a été mise en évidence dans le sérum et les selles de patients présentant un cancer colorectal, ainsi que dans le sérum de patients présentant un cancer du pancréas, de l'estomac, du rein ou du poumon (35). M2PK joue également un rôle dans d'autres domaines tels que la réponse immunitaire, l'infertilité masculine, le diabète, le vieillissement cellulaire (35)…

I-4-4- La néopterine

La néopterine, ou 6-D-erythrotrihydroxypropyl-pterine, est une substance de bas poids moléculaire, synthétisée à partir de la guanosine triphosphate (GTP) par l'enzyme clé de la biosynthèse des ptéridines (molécules pigmentaires): la GTP-cyclohydrolase I. La GTP-cyclohydrolase clive la guanosine triphosphate pour former du 7,8-dihydroneopterine-triphosphate, un intermédiaire (Figure 4). Contrairement aux autres cellules, les monocytes et macrophages humains possèdent une faible activité constitutionnelle de l'enzyme formant la biopterine, la pyruvoyl-tetrahydropterine synthase (PTPS), ce qui est à l'origine du fait que les molécules synthétisées et relarguées dans le milieu extracellulaire sont presque exclusivement de la néopterine et de la 7,8-dihydroneopterine (36),(C).

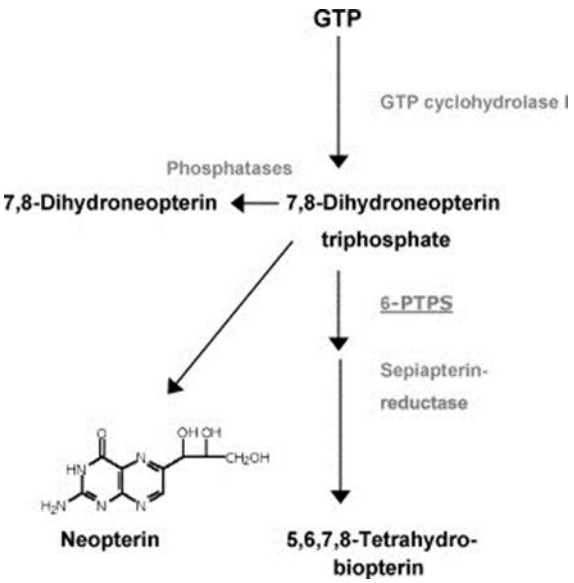


Figure 4 : Voie de synthèse de la néopterine

La production de néopterine est sous tendue par l'activation des lymphocytes T : quand ils reconnaissent une cellule étrangère ou une cellule modifiée, ils commencent à produire des lymphokines avec parmi elles, l'interféron (IFN) gamma. Celui-ci stimule les monocytes et macrophages qui produisent alors et excrètent la néopterine (36), (C). L'IFN Gamma est pour l'instant la seule cytokine capable d'induire une production significative de néopterine. Les autres chimiokines comme le TNF alpha, par exemple, ne peuvent jouer qu'un rôle de co-stimulateur, par le biais de la sécrétion d'IFN. (C)

La néopterine, ainsi que ses dérivés, interviennent dans les processus de réaction inflammatoire et de réponse immunitaire : ils participent à la fonction cytotoxique des macrophages, en stimulant leur capacité à produire des radicaux libres et en potentialisant l'effet de ceux-ci (C). Par ailleurs, une action des dérivés de la néopterine sur le cycle cellulaire a été mise en évidence à partir d'études in vitro : ils pourraient, par des voies complexes de signalisation, jouer un rôle dans l'apoptose. (C)

En cas de processus inflammatoire, des taux importants de néopterine sont alors détectables dans le sérum et les fluides corporels concernés comme les urines, les selles, ou le liquide céphalo rachidien (LCR) (C). Des dosages ont donc été testés et étudiés dans une multitude de circonstances différentes :

- dans des processus infectieux (bactériens, viraux, parasitaires): par exemple, dans le Virus de l'immunodéficience humaine (VIH), un taux élevé de néopterine est un facteur de mauvais pronostic de l'évolution de la maladie, mais peut aussi être utile dans le suivi du traitement.

-dans des maladies inflammatoires systémiques (polyarthrite rhumatoïde, lupus érythémateux disséminé, maladie de Crohn et RCH), comme outil de mesure de la sévérité de la maladie (C).
-dans des pathologies tumorales malignes (cancers gynécologiques, hématologiques, cancer du poumon, de la prostate, du colon, carcinome hépato cellulaire), comme facteur pronostic (C).
-dans le domaine des transplantations (cœur, rein, foie): le taux de néopterine serait un indicateur précoce de rejet avant que les paramètres cliniques et biologiques classiques ne se modifient (C).

I-4-5- La zonuline

La zonuline, ou pré Haptoglobine 2 (pré HP2), est la forme précurseur non clivée (donc mono chaîne) de l'haptoglobine 2. L'haptoglobine est une glycoprotéine hétérodimérique : elle est composée d'une chaîne alpha et d'une chaîne beta qui sont reliées par une liaison covalente, seule la chaîne beta étant glycosylée. Alors que la chaîne beta est constante, la chaîne alpha existe sous deux isoformes 1 et 2. De la présence d'une ou des deux isoformes, résulte les trois phénotypes d'Haptoglobine : HP1–1 homozygote, HP2–1 hétérozygote, et HP2–2 homozygote (forme clivée de la zonuline). La seule fonction pour l'instant connue à l'Haptoglobine est de former un complexe avec l'hémoglobine libre, empêchant la formation de radicaux libres (activité anti oxydante) (37).

La pré Haptoglobine 2 a été découverte à partir de l'étude de Zot, une entérotoxine synthétisée par vibrio cholerae (bactérie du choléra), qui possède la faculté d'ouvrir de façon réversible les jonctions intercellulaires de l'épithélium intestinal. Ainsi, la zonuline a été identifiée très récemment comme la version endogène de Zot dans l'espèce humaine (37,38).

Au plan fonctionnel, avant l'identification de la pré HP2 comme un agent favorisant l'hyperperméabilité intestinale, aucune autre fonction ne lui avait été attribuée. Son action sur l'épithélium intestinal est liée à l'analogie protéique d'une séquence de la zonuline avec le facteur de croissance EGF (Epidermal Growth Factor), qui par le biais de la fixation à son récepteur (EGFR), entraine l'ouverture des jonctions intercellulaires de l'épithélium intestinal (37,38). Parmi les stimuli qui entrainent le relargage de zonuline, le gluten et les bactéries sont les plus puissants identifiés. C'est d'ailleurs pour cette raison

que des infections intestinales, par le biais de l'altération de la barrière digestive, ont été inculpées dans la pathogénie de plusieurs maladies, incluant :

- des maladies auto immunes: maladie cœliaque, diabète de type 1, spondylarthrite ankylosante, lupus érythémateux disséminé, MICI (37).

-certains cancers : cerveau, poumon, sein, pancréas, ovaire (37).

-des maladies du système nerveux central: maladies démyélinisantes, autisme, schizophrénie (37).

En ce qui concerne notre sujet, les MICI peuvent être reliées à un accès inapproprié d'antigènes étrangers au niveau du tissu lymphoïde digestif, entrainant une activation du système immunitaire à ce niveau. Si une fragilité primitive de la barrière intestinale potentiellement liée à la voie de la zonuline est impliquée dans ce phénomène, il est certain que la production de cytokines incluant l'IFN gamma et le TNF alpha contribue à perpétuer l'hyperperméabilité intestinale en réorganisant les multiples protéines constituant les jonctions inter cellulaires. Dans la maladie de Crohn quiescente, il a été démontré qu'une augmentation de la perméabilité intestinale précédait la rechute clinique, suggérant que ce phénomène constituait une étape précoce de l'exacerbation de la maladie. L'hypothèse selon laquelle le défaut de barrière intestinale est sous tendu par la génétique, est validé par le fait que des apparentés au premier degré de patients atteints de maladie de Crohn présentent une perméabilité intestinale augmentée. Il a été récemment mis en évidence qu'une augmentation de la zonuline sérique est détectable dans la phase aigüe d'une MICI et que ce taux sérique baisse quand une thérapeutique adaptée est mise en œuvre, d'où l'intérêt d'envisager la zonuline comme un nouveau biomarqueur de suivi de ces pathologies (37).

I-5- Etat actuel des connaissances sur les marqueurs fécaux dans les MICI et en particulier dans la RCH

Comme nous l'avons expliqué précédemment, l'hypothèse principale qui a fait étudier ces différentes protéines fécales dans les MICI est qu'il existe une probable corrélation entre leur taux et le degré d'inflammation digestive. Ainsi, les biomarqueurs fécaux ont été étudiés à plusieurs stades des MICI : les plus étudiés jusqu'à présent sont la calprotectine et la lactoferrine.

I-5-1- Le rôle des biomarqueurs fécaux dans le diagnostic des MICI.

Les symptômes cliniques faisant découvrir une MICI étant parfois très peu spécifiques, il peut être difficile de faire la différence entre une authentique maladie inflammatoire et un trouble fonctionnel digestif. C'est alors l'endoscopie avec réalisation de biopsies à visée anatomopathologique, qui fait le diagnostic. Plusieurs études se sont intéressées au rôle potentiel des marqueurs fécaux dans cette situation et à leur capacité à différencier les deux types de pathologies.

Par exemple, une étude italienne de Costa et al. publiée en 2003, a dosé les taux de calprotectine fécale chez différents types de patients (239 au total): 131 patients atteints de MICI (49 maladies de Crohn et 82 RCH), 26 présentant un cancer colo rectal, 48 avec syndrome de l'intestin irritable et 34 sujets sains. Les résultats ont mis en évidence des taux significativement plus élevés de calprotectine fécale chez les patients atteints de MICI ou de néoplasie par rapport aux patients présentant un syndrome de l'intestin irritable et les patients sains. La sensibilité et la spécificité du marqueur pour différencier une pathologie inflammatoire d'une pathologie fonctionnelle étaient optimales pour une valeur seuil de 60 µg/g de selles (39).

Dans le même esprit, une étude de Langhorst et al. a évalué la capacité de la calprotectine fécale et de la lactoferrine (ainsi que de plusieurs paramètres sanguins) à faire un diagnostic de MICI et à distinguer une MICI active d'une maladie quiescente. Ainsi, 139 patients destinés à une endoscopie diagnostique se sont vus doser plusieurs paramètres, dont la calprotectine fécale et la lactoferrine. Parmi eux, il y a eu 54 diagnostics de syndrome de l'intestin irritable (SII), 43 maladies de Crohn, et 42 RCH. Il avait été objectivé des taux significativement plus bas de calprotectine et de lactoferrine en cas de RCH, de maladie de Crohn quiescentes et de SII qu'en cas de MICI actives. Avec un seuil de 48µg/g, la calprotectine avait la meilleure précision diagnostique pour détecter l'inflammation dans la maladie de Crohn (81.4%), alors qu'avec un seuil de 7,05 µg/mL, la lactoferrine était supérieure dans la RCH (83.3%). Les deux protéines étaient systématiquement meilleures que la CRP, avec comme gold standard l'endoscopie (40).

Une méta analyse publiée en 2010, incluant 13 études (6 chez des adultes, et 7 chez des enfants et adolescents), a confirmé ces données pour la calprotectine. Chez les adultes, cette protéine a une sensibilité et une spécificité de 0,93 et 0,96 pour le diagnostic de MICI, avec des chiffres moindres chez les enfants et adolescents: (0,92 et 0,76 respectivement). La calprotectine pourrait donc être un outil pour sélectionner les patients candidats à une endoscopie diagnostique, réduisant ainsi de 67% le nombre d'endoscopies (41).

Dans cet esprit de réduction du nombre d'endoscopies diagnostiques, une étude Suisse de 2011 a évalué le montant des économies réalisées par an si les candidats à une endoscopie diagnostique pour suspicion de MICI, étaient présélectionnés par un dosage de calprotectine fécale. Ainsi, les données de 3369 patients ayant bénéficié d'un dosage de calprotectine fécale et d'une endoscopie diagnostique ont été analysées : pour des seuils respectifs de 50µg/g et de 100µg/g, les demandes d'endoscopies seraient réduites de 50 et de 67%, ce qui aurait abouti à une économie de 1,57 et 2,13 millions d'euros. En revanche, cette étude ne prenait pas en compte la proportion de faux négatifs et les coûts engendrés par ces diagnostics ratés (42).

En ce qui concerne la M2PK, elle semble également capable de différencier une pathologie inflammatoire du tube digestif d'une pathologie fonctionnelle, comme le montrent deux études publiées en 2007 et 2009 (43),(44). Cependant, bien que les valeurs de M2PK présentent une très bonne corrélation avec les taux de calprotectine fécale, il semble que la sensibilité et la spécificité soient légèrement moins bonnes pour différencier les deux types de pathologie :

- Dans la première étude anglaise de Chung-Faye et al. (43), on retrouve respectivement : avec un seuil à 3,7 U/mL pour la M2PK et à 25µg/g pour la calprotectine, des sensibilités (Se) à 73 et 80%, des spécificités (Sp) identiques à 74%, des valeurs prédictives positives (VVP) à 89 et 87%, des valeurs prédictives négatives (VPN) à 57 et 65%.
- Dans la seconde étude anglaise de Jeffery et al. (44), on retrouve respectivement : avec un seuil à 4U/mL pour la M2PK et 50µg/g pour la calprotectine, des Se à 67% et 93%, des Sp à 88% et 92%, des rapports de vraisemblance positive de 5,6 et 11,6, et des rapports de vraisemblance négative de 0,18 et 0,07.

En ce qui concerne la néopterine et la zonuline, après revue de la littérature, aucune étude n'a analysé ces protéines comme marqueurs de diagnostic différentiel avec des pathologies fonctionnelles.

I-5-2- Le rôle des biomarqueurs fécaux dans l'évaluation de l'activité de la maladie.

Au-delà du rôle que les marqueurs fécaux peuvent avoir dans le diagnostic de la maladie, leur utilité a également été étudiée dans l'activité des MICI : en effet, puisque les marqueurs fécaux semblent être bien corrélés au degré d'inflammation intestinale et

peuvent aider à distinguer une MICI d'une pathologie fonctionnelle digestive, des études ont été réalisées en vue d'étudier leur capacité à distinguer le degré de sévérité des MICI.

Un travail de Vieira et al. publié en 2009, étudiait la faculté de la calprotectine et de la lactoferrine à refléter le degré d'inflammation intestinale et donc la sévérité de la maladie. Ainsi, chez 78 patients atteints de maladie de Crohn ou de RCH, on recueillait à un instant t les données suivantes: scores cliniques et endoscopiques d'activité, score histologique, divers paramètres biologiques sanguins et fécaux (calprotectine et lactoferrine). Chez 52 patients pour qui l'analyse histologique retrouvait des stigmates d'inflammation, 49 avaient un taux de lactoferrine élevé, et 40 avaient un taux de calprotectine supérieur à 200 mg/kg (meilleur seuil pour une sensibilité de 88,6% et une spécificité de 97,1%). Les deux marqueurs fécaux présentaient une bonne corrélation avec le score de Mayo pour la RCH, le CDAI et le CDEIS pour la maladie de Crohn, et le taux de CRP (45).

Comme nous l'avons vu précédemment, les scores cliniques et les paramètres sanguins ne sont pas toujours des outils très performants pour évaluer précisément le degré de sévérité de la maladie. Dans le cadre de la maladie de Crohn, une étude de Schoepfer et al. publiée en 2010 a montré que la calprotectine avait un meilleur taux de corrélation avec le SES-CD (Simple Endoscopic Score for Crohn Disease) (r=0,75), que la CRP (r=0,53), le taux de leucocytes (r=0,42) et le CDAI (Crohn Disease Activity Index) (r=0,38). La calprotectine était d'ailleurs le seul marqueur à pouvoir discriminer une maladie endoscopiquement quiescente d'une maladie légèrement active, une activité légère d'une activité moyenne, une activité moyenne d'une activité sévère. Avec un seuil de 70µg/g, la calprotectine avait un pouvoir de 87 % pour discriminer une maladie active, contre 66 % pour une CRP élevée, 54% pour une hyperleucocytose et 40% pour un CDAI ≥ 150 (46).

Dans la RCH, une autre étude suisse de Schoepfer et al publiée en 2009 confirme les résultats précédents. Le score endoscopique utilisé était le score de Rachmilewitz. Parmi les paramètres testés (Clinical Activity index, CRP, taux de leucocytes et calprotectine fécale), c'était la calprotectine qui avait de loin, la meilleure corrélation (r=0,834) avec le score de Rachmilewitz : elle permettait, de façon significative, de distinguer une maladie inactive, d'une maladie de sévérité légère, moyenne et importante (47).

Pour la M2PK, une étude polonaise publiée en 2007 (48), a étudié sa capacité à détecter l'inflammation intestinale dans une population de 107 enfants atteints de MICI (32 Crohn et 75 RCH). Les scores clinico-biologiques d'activité de la maladie (Pediatric Crohn Disease Activity Index (PCDAI) et Truelove et Witts) étaient relevés parallèlement. Avec

un seuil de 4U/g, la M2PK détectait 94,1% des patients présentant une maladie de Crohn active et 94,3% des RCH actives. Les taux de M2PK étaient significativement plus bas chez les patients atteints de RCH en rémission clinique par rapport à ceux qui étaient en phase active de leur maladie. Bien que la méthodologie de cette étude soit discutable, il semble que la M2PK puisse avoir une utilité dans l'évaluation de l'activité des MICI.

En ce qui concerne la néopterine, cette protéine avait été étudiée dès les années 80 dans les urines de patients atteints de MICI. Il apparaissait que des taux urinaires élevés de néopterine chez des patients porteurs de RCH, étaient corrélés à une maladie cliniquement active (49). Par la suite, la néopterine a été étudiée dans le sérum de patients atteints de MICI, avec des conclusions similaires malgré une méthodologie discutable. (50)

C'est beaucoup plus récemment que la néopterine a été étudiée dans les selles. Ainsi, une étude de Nancey et al. publiée en 2013, portant sur 133 patients (78 Crohn et 55 RCH) démontre que cette protéine serait aussi performante que la calprotectine pour distinguer les patients qui présentent une maladie endoscopiquement quiescente de ceux qui présentent une maladie active, la corrélation étant d'autant plus importante que l'on se trouve dans le cadre d'une RCH : $r = 0.75$ et 0.72, respectivement pour la calprotectine et la néopterine ($p < 0.0001$), versus $r = 0.53$ et 0.47 dans la maladie de Crohn ($p < 0.0001$). Avec des seuils respectifs de 250µg/g pour la calprotectine et de 200 pmol/g pour la néopterine, les deux marqueurs avaient un pouvoir diagnostic similaire pour prédire une activité endoscopique, encore une fois plus important dans la RCH (88 et 90% respectivement) que la maladie de Crohn (74% pour les deux protéines) (51).

Une étude de Husain et al. également publiée en 2013 confirme la faculté de la néopterine fécale à refléter l'activité de la maladie. En revanche, dans cette étude, le dosage de la protéine dans le sérum ou les urines n'apparaissait pas du tout pertinent (52).

Bien qu'aucune donnée ne semble disponible dans ce contexte pour la zonuline, les conclusions de ces différents travaux laissent penser que la calprotectine, la lactoferrine, la M2PK et la néopterine pourraient se substituer à certains contrôles endoscopiques dans la surveillance de l'activité de la RCH.

I-5-3- Le rôle des biomarqueurs fécaux dans la prédiction de la rechute

Les biomarqueurs fécaux ont également été analysés dans le rôle de facteurs pronostiques pour l'évolution des MICI. En effet, chez des patients présentant une maladie quiescente, des taux élevés de calprotectine fécale et de lactoferrine peuvent être des facteurs prédictifs de rechute. Il n'existe pas de données dans ce contexte pour la M2PK, la néopterine, ni pour la zonuline.

Ainsi, une étude prospective publiée en 2009 a inclus 89 patients atteints de maladie de Crohn et 74 de RCH en rémission depuis au moins 6 mois. Vingt-six rechutes sont survenues au cours de 12 mois de suivi. Chez les patients ayant rechuté, les valeurs de calprotectine fécale et de lactoferrine étaient significativement plus élevées à l'inclusion que chez les patients indemnes de toute rechute au cours du suivi (53). Au moins deux autres études confirment ces résultats pour la calprotectine: celle de Tibble et al., publiée en 2000 (54) et celle de Valle Garcia-Sanchez et al., publiée en 2010 (55). Cela laisse donc supposer que les marqueurs fécaux ont une capacité à détecter une inflammation digestive infra clinique.

La calprotectine serait un meilleur facteur prédictif de rechute dans la RCH que dans la maladie de Crohn comme le suggère une étude de Costa et al. parue dans Gut en 2005. Soixante-dix-neuf patients (38 maladies de Crohn et 41 RCH) en rémission clinique, ont été suivis durant un an : le taux de calprotectine fécale était significativement plus élevé dans le groupe de patients porteurs de RCH et rechuteurs que dans le groupe de non rechuteurs (médiane de 220,6 µg/g vs 67 µg/g, p<0,0001). Aucune différence significative n'avait été mise en évidence entre les rechuteurs et non rechuteurs au cours de la maladie de Crohn (médiane de 220,1 et 220,5 µg/g, p=0,395). Ces constatations semblaient liées au fait que la calprotectine fécale présente une performance moindre dans l'évaluation de l'inflammation grêlique en comparaison à l'inflammation colique (mauvais rendement dans les maladies de Crohn de localisation iléale) (56).

Afin de valider ces données, Mao et al ont publié très récemment une méta analyse de 6 études ayant toutes évalué la capacité de la calprotectine fécale à prédire la rechute chez des patients présentant une MICI quiescente : ainsi, 672 patients ont été inclus (318 RCH et 354 maladies de Crohn). La sensibilité et la spécificité cumulées de la calprotectine pour la prédiction de la rechute étaient respectivement de 78% (IC 95% [72–83]) et de 73% (IC 95% [68–77]). L'aire sous la courbe ROC était de 0,83. En revanche, la capacité de la calprotectine à prédire la rechute était similaire chez les patients porteurs

de RCH et ceux porteurs d'une maladie de Crohn (avec la réserve d'un manque de données pour les maladies de Crohn de localisation purement iléales) (57).

.

La calprotectine a par ailleurs été étudiée comme facteur prédictif de colectomie chez des patients présentant une colite aigue grave. Une étude publiée en 2008 a inclus 90 patients présentant un tableau de colite aigue grave. Tous les patients se voyaient doser la calprotectine le plus tôt possible après l'admission. Les patients ayant subi une colectomie avaient des taux de calprotectine fécale significativement plus élevés que ceux qui avaient répondu au traitement médical (corticoïdes IV +/- IFX): 1200µg/g vs 887µg/g, p=0,04. Il y avait pour les patients en échec des corticoïdes ou de l'infliximab, une tendance non significative à des taux plus élevés de calprotectine par rapport aux patients répondeurs au traitement médical. Un seuil à 1922,5 µg/g permettait d'identifier 87% des patients qui allaient subir une colectomie dans les 6 mois (58).

I-5-4- Le rôle des biomarqueurs fécaux dans la prédiction de la réponse au traitement à moyen et long terme.

L'utilisation des marqueurs fécaux dans le suivi de la réponse aux traitements commence à se démocratiser dans les études actuelles. Cependant, jusqu'à présent, rares sont les publications dont l'objectif principal était d'évaluer la faculté des marqueurs à prédire la réponse aux traitements entrepris, à court ou plus long terme.

Une étude finlandaise publiée en 2011, a porté sur une population pédiatrique de 36 individus (23 maladies de Crohn et 13 RCH), chez qui un traitement par infliximab était instauré. Les taux de calprotectine fécale étaient mesurés à S0, S2, et S6. Au moment de l'introduction, les taux médians étaient de 1150 µg/g, et baissaient significativement à S2 avec une médiane de 261µg/g ($p<0,001$). A S6, 22% des patients voyaient leur taux de calprotectine remonter parfois au-delà des taux mesurés à S0, suggérant un échappement au traitement. Malheureusement, il n'était pas prévu dans ce travail de comparer les taux de calprotectine aux scores d'activité clinique ou endoscopique, ni d'analyser l'impact de la cinétique du marqueur sur l'attitude thérapeutique (augmentation des doses d'infliximab, ou changement de traitement) (59).

Une autre étude finlandaise publiée en 2008, a évalué une population de 30 patients atteints de maladie de Crohn chez qui un traitement par anti TNF alpha était mis en place. L'évolution du CDAI, de la CRP, du CDEIS, d'un score histologique et des taux de

calprotectine et lactoferrine étaient étudiés entre S0 et S12. Il s'avérait que tous les marqueurs diminuaient de façon significative à 3 mois. La corrélation entre le CDEIS et les marqueurs fécaux était plus forte qu'avec le CDAI ou la CRP. En revanche, toute corrélation avec le delta du score histologique entre S0 et S12 n'apparaissait pas significative, sous réserve que le score utilisé n'était pas validé. Cette étude montre que la calprotectine et la lactoferrine sont des marqueurs très performants dans l'évaluation de l'efficacité de l'induction par un traitement anti TNF (60).

En ce qui concerne plus particulièrement la RCH et la réponse au traitement à court terme, nous disposons d'une étude belge publiée en 2012: le but était d'évaluer l'effet d'un traitement d'induction par infliximab sur les taux de calprotectine fécale, dosés de façon hebdomadaire chez les 53 patients inclus. Suite à la phase d'induction par infliximab, on assistait alors à une diminution significative des taux de calprotectine entre S0 (médiane de 1260 mg/kg) et S10 (médiane de 72,5mg/kg). Ainsi, 58 % des patients présentaient à S10 à la fois une rémission endoscopique et une diminution significative du taux de protéine. Ces mêmes patients avaient à S2 des taux significativement inférieurs par rapport aux patients présentant des signes d'activité endoscopique à S10, suggérant qu'une baisse précoce des taux de calprotectine serait prédictive d'une réponse au traitement d'induction (61).

En 2012, Molander et al publient une étude dans laquelle est évalué le rôle de la calprotectine fécale dans la prédiction de la rémission à plus long terme. En effet, dans une population de 60 patients présentant une MICI (34 maladies de Crohn et 26 RCH), chez qui un traitement par anti TNF alpha (infliximab ou adalimumab) était instauré, les patients présentant un taux normalisé de calprotectine à l'issue de l'induction (31 patients avec un taux ≤ 100 µg/g) étaient plus susceptibles d'être en rémission clinique à un an que ceux qui présentaient un taux de calprotectine fécale encore élevé. Ainsi, on retrouvait 26 patients sur 31 en rémission à un an dans le groupe calprotectine normalisée après induction, contre seulement 11 patients sur 29 dans le groupe non normalisée. ($p<0,001$). Le seuil optimal pour prédire une maladie active à un an était de 139 µg/g (Se de 72% et Sp de 80%) (62). En revanche, le travail de Laharie et al. n'a pas validé cette notion dans le cadre de la maladie de Crohn, puisque les taux de calprotectine fécale à l'issue de l'induction n'étaient pas significativement différents entre le groupe de patients rechuteurs et non rechuteurs (63).

En 2013, De Vos et al se sont interrogés sur l'utilité des dosages répétés de calprotectine fécale lors du traitement de maintenance par Infliximab dans la RCH. Quatre-

vingt-sept patients porteurs de RCH et sous traitement d'entretien par Infliximab ont été prospectivement inclus, avec dosage de la calprotectine fécale toutes les 4 semaines pendant un an. Chez les patients rechuteurs, des taux significativement élevés (>300 mg/kg) trois mois avant la survenue de la poussée ont ainsi pu être observés. Ainsi, deux dosages consécutifs à un mois d'intervalle, retrouvant des taux de plus de 300 mg/kg prédisaient avec une sensibilité de 61,5% et une spécificité de 100% une rechute clinique dans l'année (64).

I-6- Rationnel et objectifs de l'étude.

L'analyse de la littérature nous montre donc que les marqueurs fécaux sont des instruments potentiellement utiles dans les MICI et en particulier dans la RCH à tous les stades de la maladie : à la fois pour son diagnostic, l'évaluation de son activité, mais aussi comme facteurs prédictifs de rechute et de réponse aux traitements anti TNF alpha.

En revanche, si les études sur les protéines fécales sont nombreuses, elles portent principalement sur la calprotectine et la lactoferrine. Nous disposons seulement de quelques données assez anciennes sur la valeur de la M2PK et de la néopterine dans l'évaluation de l'activité des MICI, avec des méthodologies imparfaites. En ce qui concerne la zonuline, aucun article dédié n'apparait dans la littérature. De même, peu de travaux portent sur les capacités des marqueurs fécaux à prédire la réponse aux anti TNF alpha à court terme, et seules deux études de petit effectif ont évalué la calprotectine fécale dans l'évaluation de la réponse à long terme (à un an) (62),(64).

Nous avons donc étudié l'utilité de la calprotectine fécale mais aussi des autres marqueurs fécaux (lactoferrine, M2PK, zonuline et néopterine) dans l'évaluation de la réponse au traitement par infliximab à la fois à court terme (S14) et plus long terme (1 an) chez les patients atteints de RCH active. Le but de ce travail est de démontrer qu'une baisse précoce des marqueurs fécaux est prédictive d'une réponse clinique et endoscopique au traitement d'induction, et qu'une baisse significative des marqueurs fécaux à l'issue du traitement d'induction est prédictive d'une réponse clinique à 1 an. Les corrélations entre la calprotectine fécale et les autres marqueurs fécaux et les corrélations entre la calprotectine et les scores de sévérité endoscopique ont également été évaluées.

II- MATERIELS ET METHODES

II-1- Population étudiée

Nous avons choisi de réaliser une étude prospective observationnelle, menée en collaboration entre deux services de gastroentérologie de deux centres hospitaliers universitaires : l'Archet II à Nice (service d'hépato-gastroentérologie du Pr Hébuterne) et le centre Lyon sud (service d'Hépato-gastroentérologie du Pr Flourié).

Nous avons inclus dans l'étude entre mars 2011 et octobre 2012, tous les patients présentant une RCH et chez qui une décision de mise en place d'un traitement par infliximab était prise. Les raisons de l'instauration du traitement par anti TNF alpha suivaient les indications de l'AMM. A noter que nous n'avions pas prévu d'inclure les patients qui auraient pu bénéficier pendant cette période d'un traitement par adalimumab, étant donné que l'attribution de l'AMM dans cette indication a été postérieure au début de notre étude.

Les patients devaient consentir à l'inclusion, après information orale donnée quant aux modalités de déroulement de celle-ci. Les critères de non inclusion étaient les suivants :

- un âge <16 ans,
- une grossesse en cours,
- une colite infectieuse objectivée par des coprocultures positives, ou une infection par le CMV objectivée par une antigénémie pp65 positive,
- un antécédent de cancer colorectal,
- un antécédent de chirurgie colique étendue,
- une prise régulière d'aspirine ou d'anti inflammatoires non stéroïdiens,
- les contre-indications habituelles à la mise en place d'un traitement anti TNF alpha : antécédent d'allergie sévère au principe actif du médicament ou à l'un de ses excipients, infection au moment de l'inclusion, notamment tuberculose latente ou active (le patient devant être traité selon les recommandations avant de débuter l'infliximab), insuffisance cardiaque modérée à sévère, maladie démyélinisante évolutive, antécédent récent de néoplasie.

Les critères d'exclusion étaient :

- des manquements récurrents à la réalisation des prélèvements de selles chez un même patient au cours du suivi,
- l'expression par un patient de sa volonté de se retirer de l'étude.

A l'inclusion, les éléments suivants étaient recueillis:

- caractéristiques générales de la population : âge, sexe, poids, taille, indice de masse corporelle (IMC),
- caractéristiques de la RCH : ancienneté, extension selon la classification de Montréal (E1=rectite, E2=colite gauche, E3=colite étendue), antécédent de maladie anopérinéale, antécédent de chirurgie colique, manifestations extra digestives (spondylarthropathie par exemple),
- antécédents familiaux de maladie inflammatoire du tube digestif (RCH ou maladie de Crohn ou colite indéterminée),
- statut tabagique (actif, sevré, non-fumeur),
- thérapeutiques antérieures et au moment de l'instauration de l'infliximab.

II-2- Suivi des patients

II-2-1- Suivi clinico-biologique

Les patients étaient évalués sur le plan clinique et biologique à l'inclusion dans l'étude (S0) et à chaque passage en hôpital de jour pour la réalisation de leur traitement par infliximab, jusqu'à S14 (S2, S6, S14). Pour les patients qui le souhaitaient, le suivi était prolongé au-delà.

A chaque visite étaient relevés :

- au plan clinique: le poids et le score de Mayo partiel,
- au plan biologique sanguin: les patients devaient avoir réalisé dans les 48 heures précédant la perfusion d'infliximab, un bilan biologique avec dosage des leucocytes, de l'hématocrite, des plaquettes, de l'albumine et de la CRP ultrasensible,
- au plan biologique fécal: recueil d'un échantillon de selles réalisé dans les 24 heures précédant le traitement.

En cas d'hospitalisation pendant la période de suivi, le motif de celle-ci était mentionné. S'il s'agissait d'une poussée de la maladie, les paramètres clinico-biologiques précédemment cités étaient relevés. Si des changements ou des ajustements thérapeutiques étaient effectués en cours d'étude, ils étaient également notés. De même, la survenue d'infections chez les patients inclus au cours de l'étude était mentionnée en raison de leur possible influence sur les résultats des marqueurs sanguins et fécaux.

A un an de l'inclusion, nous consultions les dossiers des patients afin de renseigner :

- leur statut répondeur ou non au traitement,
- les éventuelles modifications thérapeutiques : optimisation du traitement par infliximab (augmentation de dose ou rapprochement des intervalles de perfusion), arrêt du traitement, nouveau traitement entrepris, colectomie.

II-2-2- Suivi endoscopique

Dans notre étude, deux évaluations endoscopiques étaient programmées :

- à l'inclusion (S0), si les patients ne disposaient pas d'une endoscopie récente (coloscopie totale ou rectosigmoïdoscopie), un nouveau bilan d'évaluation était réalisé avant la perfusion d'infliximab.
- à l'issue du traitement d'induction (à S12), nous proposions aux malades la réalisation d'une rectosigmoïdoscopie sous anesthésie locale pour évaluer la réponse endoscopique.

Pour le centre niçois, chacune des deux évaluations était effectuée préférentiellement par un des deux médecins du service, spécialisés dans la prise en charge des MICI, et donc familiers avec l'utilisation des scores d'activité endoscopique. Lorsque l'organisation du service le permettait, nous faisions en sorte que les deux évaluations endoscopiques chez un même patient soient réalisées par le même opérateur. Les médecins effectuaient l'évaluation endoscopique en aveugle des résultats biologiques sanguins et fécaux.

Les scores que nous avons choisi de calculer étaient donc le sous score endoscopique de Mayo, qui est le plus communément utilisé dans les essais cliniques, et le score UCEIS (Ulcerative Colitis Endoscopic Index of Severity), récemment validé de façon prospective. A chaque examen, des biopsies systématiques étaient réalisées afin d'exclure une atteinte infectieuse surajoutée ou un diagnostic différentiel (colite ischémique…).

II-3- Méthodes de recueil et dosage des marqueurs fécaux.

II-3-1- Modalités de prélèvement

A l'inclusion et à chaque visite, dans les 24 heures qui précédaient la réalisation de la perfusion d'infliximab, les patients devaient réaliser un prélèvement de selles dans un pot à coproculture classique. Si une évaluation endoscopique était envisagée à l'inclusion, l'échantillon devait absolument être recueilli avant l'initiation de la préparation colique ou la réalisation du lavement (pour une rectosigmoïdoscopie), afin de ne pas fausser les concentrations des marqueurs fécaux. Par la suite, lors des visites en hôpital de jour, pour des raisons de confort, nous proposions aux patients de réaliser le prélèvement la veille du traitement, à leur domicile, s'ils le souhaitaient. Les consignes étaient alors de conserver le prélèvement dans un sac plastique, à température ambiante, puisque les protéines fécales sont résistantes à la dégradation bactérienne par la flore colique et restent stables dans les selles pendant plusieurs jours (7 jours pour la calprotectine, la lactoferrine et la néopterine, 3 jours pour la M2PK).

II-3-2 -Méthodes d'extraction des selles

Pour les patients niçois, dès réception au laboratoire de biochimie, les selles étaient congelées à -20°C, en attendant d'être expédiées à Lyon pour extraction et dosage des marqueurs.

Pour les patients lyonnais, après leur recueil, les selles étaient acheminées le plus vite possible au laboratoire. Sur place, elles étaient conservées à +4°C jusqu'à ce que l'extraction, qui devait être programmée rapidement, soit effectuée.

Après homogénéisation des échantillons de selles, la procédure d'extraction pouvait alors débuter selon les modalités suivantes:

- Le prélèvement de selle pesé est mis en suspension dans un volume de tampon défini et spécifique en fonction du marqueur fécal d'intérêt. (Tableau 1)
- On procède ensuite à une agitation du mélange à l'aide d'un agitateur de type Vortex, afin d'éviter l'adhésion des selles à la paroi du tube.
- Une petite quantité d'homogénat (environ 1 à 2 mL) est transféré dans un tube Eppendorf et centrifugé : la vitesse et la durée de centrifugation sont à nouveau spécifiques de chaque marqueur fécal. (Tableau 1)

- Le dosage des marqueurs sera réalisé sur le surnageant de centrifugation. Si le dosage n'est pas réalisé immédiatement, on procède à la congélation du surnageant dans des cryotubes à la température de – 80°C.

Tableau 1 : Présentation de différents paramètres utilisés pour l'extraction des marqueurs fécaux.

Marqueurs	Quantité de selles prélevée (poids théorique)	Volume de tampon d'extraction spécifique du marqueur	Vitesse de centrifugation (tours/min)	Durée de centrifugation (minutes)
Calprotectine	100 mg	4,9 ml	10000	5
Lactoferrine	100 mg	4,9 ml	10000	20
M2PK	75 mg	7,5 ml	3500-4000	10
Néopterine	300 mg	1 ml	10000	5
Zonuline	60 mg	3 ml	3500	10

I-3-3- Méthodes de dosage des marqueurs.

Les dosages de nos marqueurs ont tous étés effectués à l'aide de techniques ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay). Pour rappel, l'ELISA est une technique immuno-enzymatique de détection qui permet de visualiser des complexes antigène-anticorps grâce à une réaction colorée produite par l'addition d'un substrat à une enzyme préalablement couplée à l'anticorps ou à l'antigène. L'un des produits de la réaction est en général coloré et quantifiable par mesure de la densité optique.

On distingue les méthodes qualitatives (exemple : dépistage du VIH), où l'on cherche simplement à mettre en évidence la présence ou l'absence de l'antigène/de l'anticorps, et les méthodes quantitatives où l'on veut obtenir une concentration chiffrée de celui-ci. Dans notre cas, il s'agit bien sûr de méthodes quantitatives, en phase hétérogène, c'est-à-dire où l'anticorps est fixé à une phase solide, et l'antigène, constitué par le marqueur fécal à doser, est présent en phase liquide (D), (E)

Parmi ces méthodes quantitatives, on distingue deux grands types d'immunodosages : avec ou sans compétition, selon que le réactif (anticorps) est limitant ou en excès par rapport à l'antigène à doser.

→ Ainsi, les méthodes de dosage avec excès de réactif sont dites immunoenzymométriques ou directes : l'ELISA sandwich en fait partie et a permis, dans notre étude, le dosage de la calprotectine, de la M2PK et de la néopterine.

Le principe de cette technique est le suivant : l'anticorps spécifique est fixé au support en excès, permettant la liaison de la totalité de l'antigène (marqueur fécal) à doser. Celui-ci est ensuite révélé par un anticorps marqué : il est donc pris en « sandwich » entre les deux anticorps. Après lavage

pour éliminer les anticorps libres, on mesure alors le signal émis par la fraction liée, qui augmente avec la concentration en antigène. (fig 5), (D), (E)

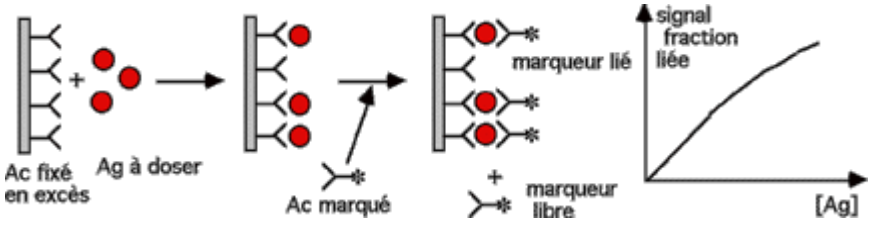


Figure 5 : Description de la technique ELISA Sandwich (E)

→ Les méthodes de dosage avec réactif limitant sont dites par compétition ou indirectes. Dans notre travail, ces méthodes ont permis de déterminer les taux de lactoferrine et de zonuline. Le principe de cette technique est le suivant : l'antigène à doser entre en compétition avec un autre antigène marqué (dont la quantité est prédéterminée), pour la liaison à l'anticorps. La totalité des sites anticorps disponibles vont être liés. Le signal émis est alors mesuré par la fraction liée de l'antigène marqué, qui diminue exponentiellement avec la concentration en marqueur fécal à doser. (fig 6), (D), (E)

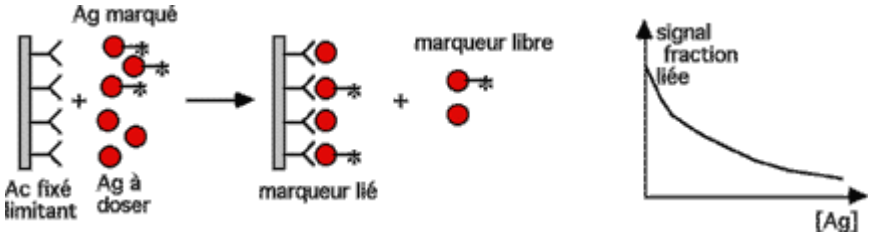


Figure 6 : Description de la technique ELISA par compétition (E)

Le Tableau 2 récapitule pour chaque marqueur : la technique ELISA et le type de kit utilisé (ainsi que le laboratoire fournisseur), l'unité d'expression, les coefficients de variation inter et intra essai et enfin les limites de détection. A noter que pour les kits ne fournissant pas d'échantillon contrôle, les coefficients de variation inter et intra essai ont été calculés sur des échantillons présentant des taux bas ou élevés de marqueurs. On retiendra également que la lactoferrine et la néopterine sont dosées à l'aide de kits fournis dans le commerce, mais selon des protocoles de travail mis au point au laboratoire de biochimie de Lyon, pour être adaptés aux dosages dans les selles.

Tableau 2: Caractéristiques des kits ELISA utilisés pour le dosage des différents marqueurs fécaux.

Marqueurs fécaux	Technique ELISA	Kit-Réactif et laboratoire	Unités d' expression	Coefficient de variation intra essai	Coefficient de variation inter essai	Limite de détection
Calprotectine	Sandwich	EK-CAL Bühlmann	µg/g de selle	- Taux bas (15µg/g) : 5% - Taux élevé (65µg/g) : 5%	- Taux bas (15µg/g) : 8,2% - Taux élevé (60µg/g) : 5,3% -Taux très éléve (161 µg/g) : 4%	<10 µg/g
Lactoferrine	Compétition	Lactoferrine ELISA Kit Calbiochem	ng/g de selle	- Taux bas : 10% - Taux élevé : 8%	- Taux bas : 12% - Taux élevé : 8%	1 ng/g
M2PK	Sandwich	Kit Schébo Tech Diasorin	U/mL d'extrait de selle	- 5%	- 7,3%	1 UI/mL
Néoptérine	Sandwich	Néoptérine ELISA Kit IBL International	pmol/g	-Taux bas : 5% -Taux élevé : 8%	-Taux bas : 8% -Taux élevé : 10%	1nmol/L
Zonuline	Compétition	Zonulin ELISA Kit Immundiagnostik	ng/mL d'extrait de selle	-Taux bas : 5% -Taux élevé : 6%	-Taux bas : 9,2% - Taux élevé : 8,1%	0,6 ng/mL

II-4- Critères de jugements

Notre objectif principal était de confirmer que la baisse précoce des marqueurs fécaux (à S2) était prédictive de la réponse clinique au traitement d'induction (à S14).

Nos objectifs secondaires étaient :

- de rechercher une corrélation entre la valeur basale des marqueurs fécaux (à S0) et la réponse clinique au traitement d'induction (à S14),
- de rechercher une corrélation entre le delta des marqueurs fécaux (S0-2 et S0-6) et la réponse clinique au traitement d'induction (à S14),
- de confirmer que la baisse précoce des marqueurs fécaux (à S2) était prédictive de la réponse endoscopique au traitement d'induction (à S12),
- de confirmer une corrélation entre les taux des marqueurs fécaux et la réponse clinique à l'induction (à S14),
- de confirmer que des taux bas de marqueurs fécaux à l'issue du traitement d'induction (à S14) étaient prédictifs d'une réponse clinique prolongée à un an (S 52),
- d'étudier la corrélation entre les taux de calprotectine fécale et les taux des autres marqueurs fécaux (lactoferrine, M2PK, néopterine, zonuline),
- de confirmer la corrélation entre la calprotectine fécale et les scores de sévérité endoscopiques.

Pour cela, et d'après les études ACT1 et 2 faisant référence dans le domaine de la RCH, nous définissions les paramètres de réponse et de rémission à S14 comme il suit :

- la réponse clinique était caractérisée par une diminution d'au moins 3 points et d'au moins 30 % du score Mayo par rapport au score initial avec une diminution du sous-score de saignement rectal d'au moins un point ou un sous-score absolu de saignement rectal compris entre 0 et 1.
- la rémission clinique était définie par un score Mayo inférieur ou égal à 2 points, sans aucun sous-score individuel supérieur à 1.
- la réponse endoscopique consistait en la baisse d'au moins un point du score endoscopique.
- la rémission endoscopique était caractérisée comme un score de mayo endoscopique de 0 ou 1.

Concernant la réponse à un an, l'échec était défini comme l'arrêt ou le changement de thérapeutique. De même, les patients chez qui une intensification de l'infliximab avait été nécessaire (passage à 10 mg/kg ou rapprochement des intervalles de temps entre les perfusions) étaient considérés comme non répondeurs.

II-5- Analyse statistique

Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel de statistiques GraphPad software Inc. (San Diego, CA).

Les résultats des données numériques ont été présentés sous forme de moyennes, écarts standards de la moyenne, médianes et intervalles interquartiles.

Le test non paramétrique de Mann-Whitney ou le test ANOVA ont été utilisés suivant le cas; une valeur de p inférieure ou égale à 0,05 a été considérée comme statistiquement significative.

Nous avons eu recours au coefficient de corrélation de Spearman pour calculer les corrélations entre les variables.

L'utilisation de courbes ROC à différents moments du suivi, a permis la détermination des meilleurs seuils de marqueurs fécaux pour la distinction des patients répondeurs et non répondeurs à l'infliximab. Les aires sous la courbe (AUC) ont également été utilisées pour la comparaison des performances respectives des biomarqueurs à prédire la réponse clinique et endoscopique.

La fiabilité de chacun des marqueurs fécaux à prédire la réponse au traitement a été exprimée en termes de sensibilité, spécificité, valeur prédictive positive, valeur prédictive négative et précision globale. La précision globale est définie comme la somme du nombre de tests vrais positifs et vrais négatifs divisée par le nombre total de tests (vrais positifs + vrais négatifs + faux positifs + faux négatifs) et a autorisé l'évaluation comparative des différents marqueurs fécaux.

III- RESULTATS

III-1- Caractéristiques de l'échantillon.

III-1-1- Caractéristiques générales de la population étudiée

Nous avons inclus entre le 01/03/2011 et le 31/10/2012, 35 patients: 21 à Nice et 14 à Lyon. Trois patients niçois et un patient lyonnais ont été exclus à posteriori, pour défauts itératifs de prélèvements de selles au cours du suivi, rendant l'exploitation des données impossible chez eux. L'analyse finale a donc pris en compte un total de 31 patients.

Parmi ces 31 patients analysés, on comptait 17 hommes pour 14 femmes. La moyenne d'âge était de 40, 6 ans (16-72). 90% des patients étaient non-fumeurs ou anciens fumeurs. Huit patients au total présentaient des manifestations articulaires, 3 seulement avaient présenté durant leur histoire des manifestations ano-périnéales. Presque 1/3 des patients avaient des antécédents familiaux de MICI (RCH ou maladie de Crohn) Le reste des caractéristiques générales des patients à l'inclusion est résumé dans le Tableau 3.

Tableau 3 : Caractéristiques générales des patients à l'inclusion.	
	Total (31 patients)
Age moyen (extrêmes)	**40,6 (16-72)**
Sexe (H/F)	**17/14**
IMC moyen (extrêmes)	**22,6 (13,5-36)**
Statut tabagique (nb) - Actif - Sevré - Non-fumeur	 **3** **9** **19**
Manifestations articulaires (nb) - Arthralgies NS - Spondylarthropathie étiquetée	**6** **2**
Antécédent de manifestations ano-périnéales (nb)	**2**
Antécédent familial de MICI (nb) - Crohn - RCH	 **3** **6**
Infection virale récente à l'inclusion (nb)	**2** (1 hépatite C chronique et une infection à CMV)
Antécédent de chirurgie colique non extensive (nb)	**1** (suture colique après perforation lors d'une coloscopie)

III-1-2- Caractéristiques propres à la rectocolite hémorragique des patients inclus

La médiane d'ancienneté de la maladie était de 3 ans, avec des extrêmes de 0 à 24 ans. Il s'agissait principalement de colites gauches (E2 dans 48% des cas) ou étendues (E3 dans 48% des cas), une seule rectite (E1) étant à comptabiliser.

Nos patients présentaient des RCH plutôt sévères à l'inclusion, puisque la moyenne des scores de Mayo partiels était de 6,8/9, celle des sous-scores endoscopiques de 2,8/3, et celle des scores UCEIS de 8,4/11. A noter que le taux moyen de CRP était de 18,9 mg/l, supérieur à la normale, signe d'un état inflammatoire systémique.

Concernant les thérapeutiques reçues par les patients, 61% avaient bénéficié d'une corticothérapie systémique antérieurement et 42% en recevaient une au début du traitement par infliximab. Presque 3/4 des patients avaient reçu par le passé des dérivés du 5 ASA, et près de la moitié, de l'azathioprine. A l'inclusion, plus d'1/3 des patients recevaient un traitement par azathioprine en association avec l'infliximab. Toutes ces données sont regroupées dans le tableau 4.

Tableau 4 : Caractéristiques principales des RCH des patients inclus, et thérapeutiques antérieures.	
	Total (31 patients)
Ancienneté de la maladie en mois (médiane et extrêmes)	**36 (0-288)**
Extension selon la classification de Montréal (nb) : -E1 -E2* -E3	 **1 (3%)** **15 (48%)** **15 (48%)**
Traitements antérieurs (nb) : -Corticoïdes systémiques -Corticoïdes topiques -5ASA (topiques ou PO) -Antibiotiques -Azathioprine -Ciclosporine -Adalimumab -Methotrexate -Aucun	 **19 (61%)** **7 (23%)** **23 (74%)** **1 (3%)** **15 (48%)** **1 (3%)** **1 (3%)** **1 (3%)** **3 (10%)**
Traitements à l'inclusion (nb) : -Corticothérapie systémique -5ASA -Azathioprine -Méthotrexate -Rien	 **13 (42%)** **16 (52%)** **11 (35%)** **4 (13%)** **2 (6%)**
Score de Mayo partiel à S0 (moy/9 et extrêmes)	**6,8 (0-9)**
Score de Mayo endoscopique à S0 (moy/3 et extrêmes)	**2,8 (2-3)**
Score UCEIS à S0 (moy/11 et extrêmes)	**8,4 (6-11)**
CRP (moyenne et extrêmes en mg/l)	**18,9 (2-229)**

(*) Les patients qui n'ont pu bénéficier à l'inclusion que d'une rectosigmoïdoscopie, et dont la limite proximale de l'atteinte n'a pu être évaluée, ont été considérés par défaut comme présentant une colite gauche (E2).

III-2- Réponse des patients au traitement par infliximab

La figure 7 illustre la répartition de nos patients en termes de réponse clinique et endoscopique.

III-2-1- Réponse clinique au traitement d'induction (évaluée à S14)

Sur les 31 patients analysés, 19 (61%) ont présenté une réponse clinique au traitement d'induction par infliximab, et 12 (39%) étaient en échec.

Parmi les 19 répondeurs, on compte 8 rémissions cliniques (42%) (Fig 7).

III-2-2- Réponse endoscopique au traitement d'induction (évaluée à S12)

Sur les 31 patients analysés, 25 endoscopies d'évaluation ont pu être effectuées à S12. Treize ont présenté une réponse/rémission endoscopique : tous étaient également répondeurs cliniques (Fig 7). Les raisons pour lesquelles 6 patients n'ont pas été évalués à S12 étaient les suivantes : 2 colites aigües graves avec échec précoce de l'infliximab, et 4 refus de réévaluation endoscopique.

Parmi les 19 patients répondeurs cliniques à l'induction, on comptait :

-13 (68%) réponses endoscopiques,

- 4 (21%) échecs endoscopiques,

- 2 qui n'avaient pas été évalués à S12. (Fig 7)

Parmi les 12 patients non répondeurs à l'induction :

-8 (67%) avaient pu bénéficier d'une réévaluation endoscopique et aucun n'y présentait de réponse.

-4 n'avaient pas pu être évalués à S12. (Fig 7)

III-2-3- Réponse clinique à 1 an (52 semaines)

Parmi les 19 patients en réponse clinique à la semaine 14, seulement 11 (58%) sont en réponse clinique à la semaine 52 (Fig 7). Parmi les non répondeurs à 1 an, 7 patients ont bénéficié d'une optimisation de l'infliximab et 1 patient a bénéficié d'un changement de classe thérapeutique, au profit du méthotrexate (Tableau 5).

Parmi les 12 patients en échec du traitement d'induction, aucun n'a présenté de réponse à la semaine 52. Parmi eux, 3 ont vu leur traitement par infliximab optimisé, tous les autres ont bénéficié d'un changement de classe thérapeutique. (Tableau 5)

Parmi les 13 patients en réponse endoscopique à S12, 9 patients (70 %) sont en réponse clinique à la semaine 52 (Fig 7).

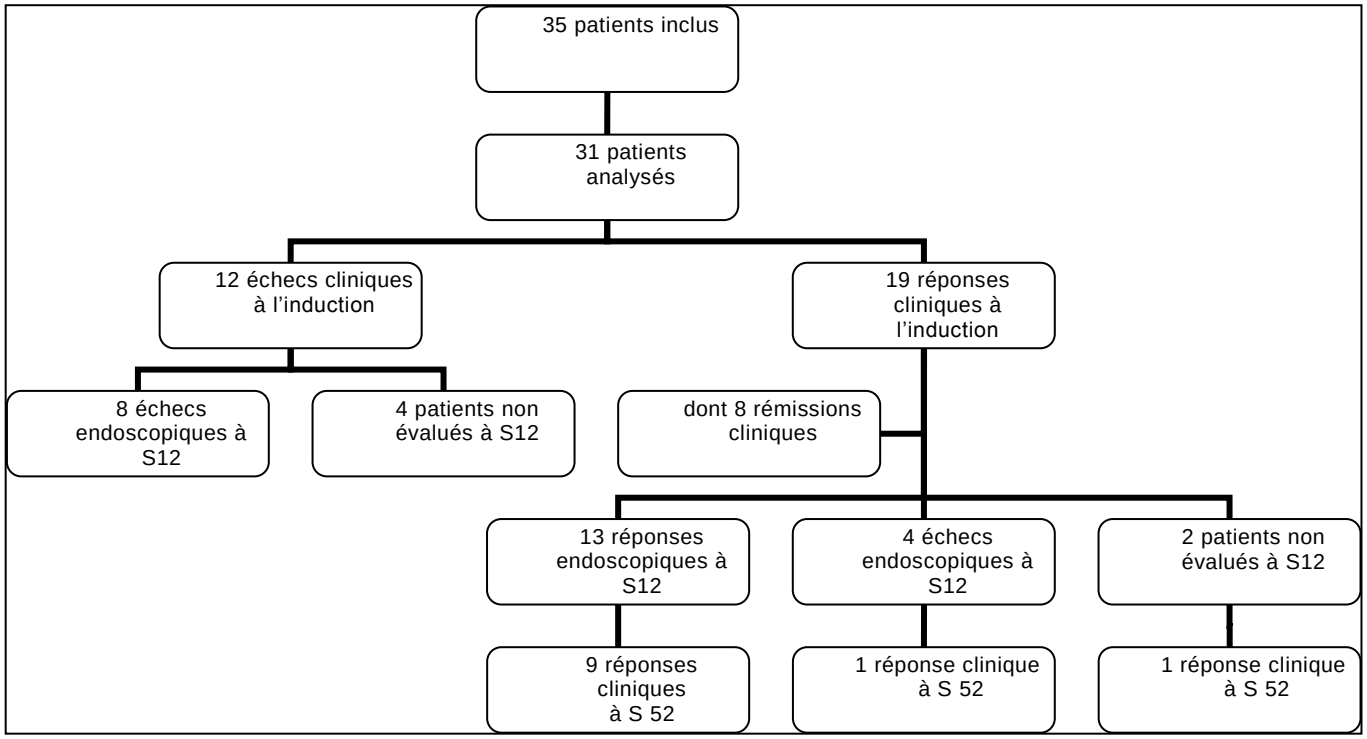


Fig 7 : Flow chart de notre échantillon

Tableau 5: Devenir à 1 an des patients répondeurs cliniques ou non répondeurs au traitement d'induction (à S14)

	Répondeurs cliniques à S14 19/31 (61%)	Non répondeurs cliniques à S14 12/31(39%)
Poursuite IFX schéma standard à S52	11/19 (58%)	0/12 (0%)
Optimisation IFX à S52	7/19 (36,8%)	3/12 (25%)
Changement de traitement à S52	1/19 (5,3%) Introduction de méthotrexate	9/12 (75%), dont : 2 passages au tacrolimus, 2 passages à l'adalimumab, 1 association imurel+ adalimumab, 1 passage à la ciclosporine suivi d'une monothérapie par imurel 2 colectomies après échec de la ciclosporine 1 patient traité uniquement par dérivés du 5 ASA

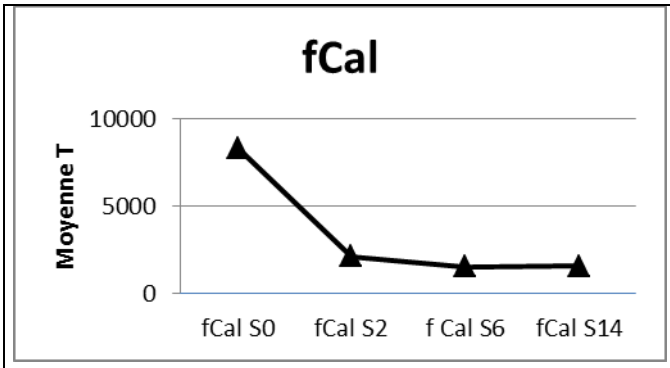
III-3- Valeurs et cinétique des concentrations de marqueurs fécaux au cours du traitement d'induction.

III-3-1- Pour la calprotectine fécale

Sur la globalité de notre population, nous avons objectivé des valeurs de calprotectine fécale très élevées à S0. A S2, S6 et S14, une baisse significative des valeurs était observée. Les résultats sont présentés dans le tableau 6 et les figures 8 et 9.

Tableau 6 : Cinétique d'évolution de la calprotectine fécale (en µg/g) au cours du traitement d'induction, pour l'ensemble de la population

		S0	**S2**	**S6**	**S14**
Population générale	Médiane (IQR)	4774 (1445-9466)	1250 (500-3552)	1249 (320-2043)	192 (57-1093)
	Moyenne (SEM)	8329 (1951)	2105 (421)	1513 (379)	1558 (805)
	Significativité (p)	***/***	**0,0004**	**0,0002**	**0,0027**



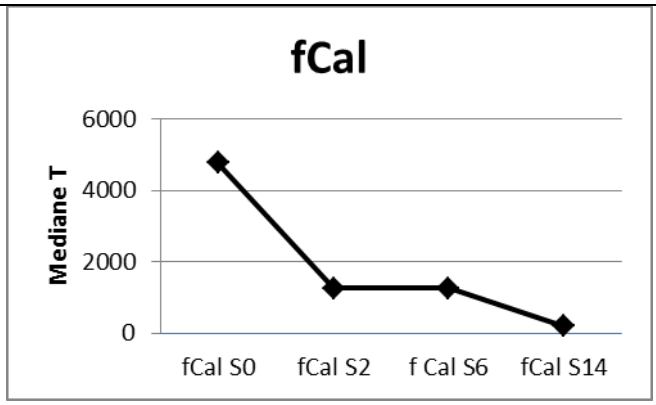


Figure 8 : Evolution des taux moyens et médians de calprotectine au cours de l'induction

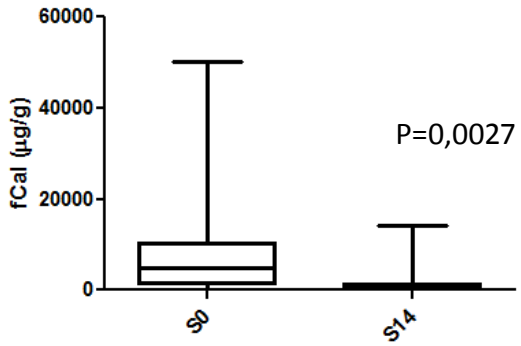


Figure 9 : Concentrations en calprotectine fécale à S0 et S14 pour la population globale (médiane, extrêmes et quartiles)

Si l'on considère séparément la population de patients répondeurs et non répondeurs à l'induction, on note que la décroissance des taux est significative dans les deux groupes de patients pour S2 et S6 ; en revanche, la décroissance n'est significative à S14 que chez les répondeurs (Tableau 7, Fig 10 et 11).

Tableau 7 : Cinétique d'évolution de la calprotectine fécale (en µg/g) au cours du traitement d'induction chez les patients répondeurs et non répondeurs

		S0	S2	S6	S14
Patients non répondeurs à S14	Médiane (IQR)	9077 (2129-14138)	1360 (846-3369)	1355 (1101-2501)	2780 (706-7053)
	Moyenne (SEM)	11679 (4348)	2316 (616)	2485 (927)	4978 (3212)
	Significativité (p)	**/**	**0,0069**	**0,0018**	**0,0001**
Patients répondeurs à S14	Médiane (IQR)	4260 (1529-7068)	778 (446-3473)	1019 (145-1441)	128 (47-440)
	Moyenne (SEM)	6389 (1741)	1964 (581)	966 (214)	580 (279)
	Significativité (p)	**/**	**0,013**	**0,039**	**0,287**

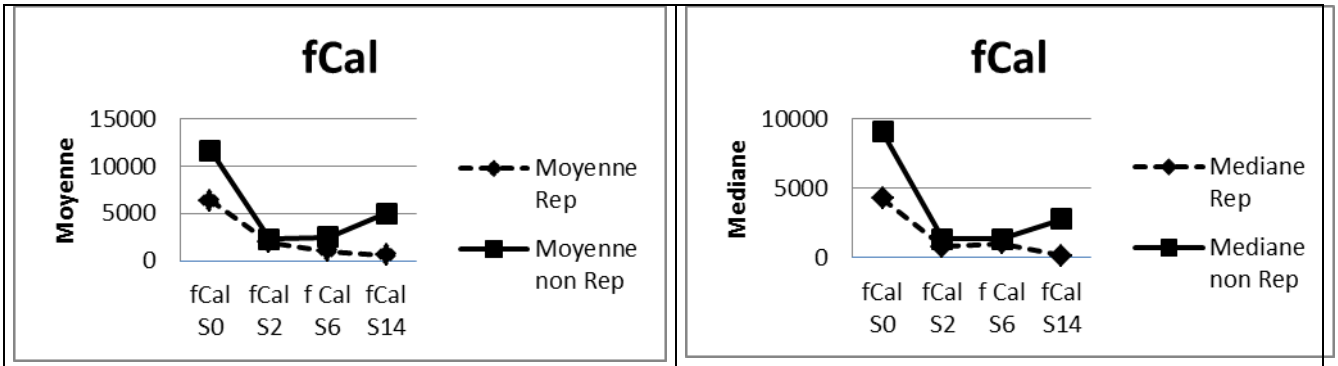


Fig 10 : Evolution des taux moyens et médians de calprotectine fécale au cours de l'induction chez les répondeurs et non répondeurs

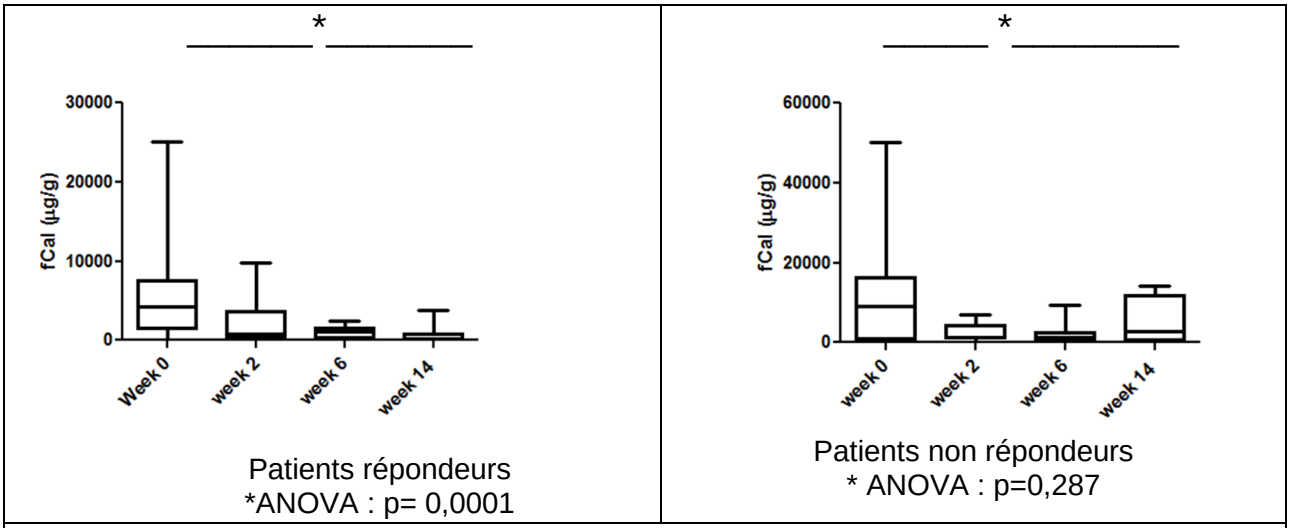


Fig 11 : Comparaison des des taux de calprotectine fécale au cours du traitement d'induction chez les patients répondeurs et non répondeurs (médianes, quartiles et extrêmes)

III-3-2- Pour les autres marqueurs

Le tableau 8 et la figure 12 illustrent la cinétique des différents marqueurs fécaux au cours de l'induction pour l'ensemble de la population. On note que seuls les taux de lactoferrine baissent de façon significative entre S0 et S14.

Tableau 8 : Evolution des taux moyens et médians des marqueurs fécaux au cours du traitement d'induction, pour l'ensemble de la population

Marqueurs		**S0**	**S2**	**S6**	**S14**	**p S0-S14**
Lactoferrine ng/g	Moyenne	444361,8 (147967)	127042,4 (33074)	133988,7 (72284)	95546,4 (44242)	**0,047**
	Médiane	129016 (41288-308374)	30640,5 (11823-30824)	25306 (3948-112118)	14247 (528-120568)	
M2PK UI/mL	Moyenne	8195,3 (2401)	1190,6 (622)	717,8 (604)	1732,5 (1416)	**0,12**
	Médiane	814 (19-14251)	155 (3-493)	18,5 (4-151)	18 (1-149)	
Neopterine pmol/g	Moyenne	380,8 (52)	345,8 (113)	345,8 (84)	260,7 (61)	**0,1034**
	Médiane	308 (175-527)	182 (72-470)	100 (66-545)	122 (62-403)	
Zonuline ng/mL	Moyenne	63,4 (7)	105,1 (22)	73,7 (11)	121,8 (34)	**0,61**
	Médiane	56 (37-69)	65,5 (50-115)	58 (47-85)	58 (43-92)	

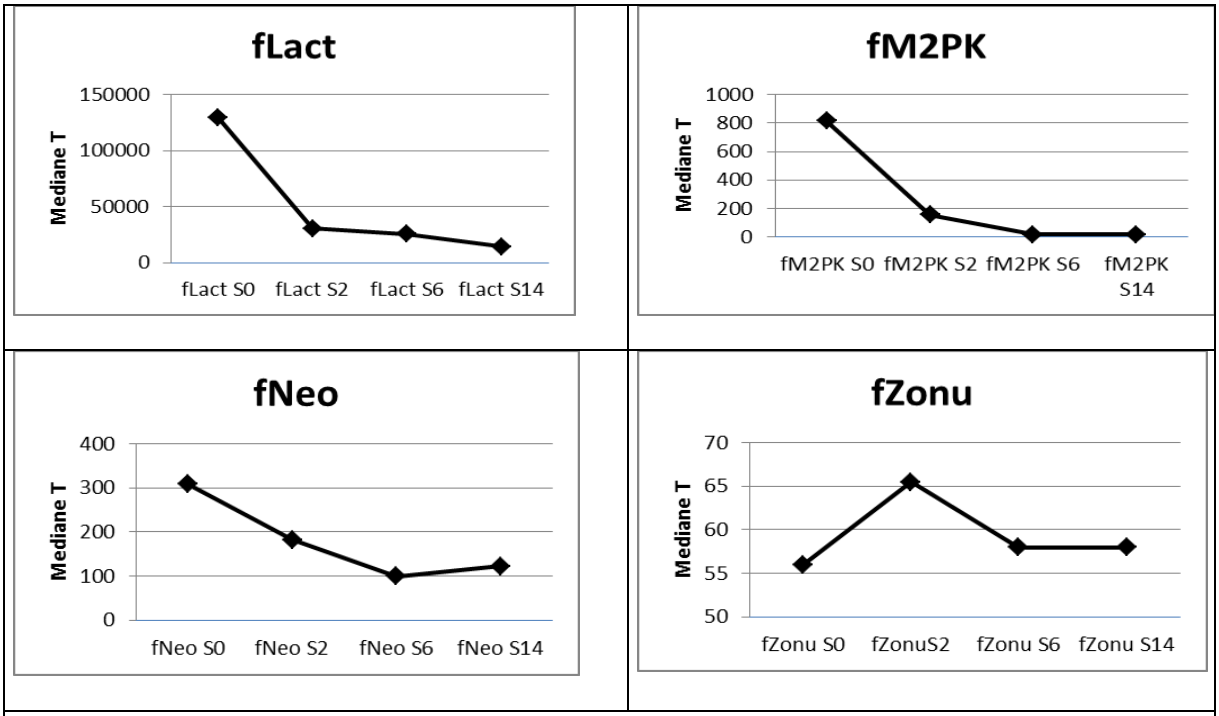


Fig 12 : Evolution des taux médians des différents marqueurs fécaux au cours du traitement d'induction pour l'ensemble de la population

Le tableau 9 et la Figure 13 illustrent la cinétique des taux des différents marqueurs fécaux dans les groupes de patients répondeurs et non répondeurs à l'induction : lorsque l'on compare les deux groupes de patients, on objective pour la lactoferrine et la M2PK, une différence significative des taux entre S0 et S14 dans le groupe de patients répondeurs, ce qui n'est pas le cas pour les non répondeurs. Ces constatations ne sont pas mises en évidence pour la néopterine et la zonuline. (Tableau 10)

Tableau 9 : Evolution des taux moyens et médians des marqueurs fécaux au cours du traitement d'induction, pour les patients répondeurs et non répondeurs

Marqueurs	**Patients**		**S0**	**S2**	**S6**	**S14**
Lactoferrine (ng/g)	Répondeurs	Moyenne (SEM)	513543 (226174)	115201 (45604)	36649 (15596)	45824 (23188)
		Médiane (IQR)	143789 (41527-221872)	19968 (4632-172359)	4024 (402-73161)	4659 (412-43965)
	Non répondeurs	Moyenne (SEM)	337445 (148658)	143190 (49482)	274590 (169760)	232282 (144316)
		Médiane (IQR)	85886 (48701-312174)	33994 (28399-292288)	39158 (26742-225775)	150937 (14720-368499)
M2PK UI/mL	Répondeurs	Moyenne (SEM)	7458,8 (3229)	676,2 (561)	84,8 (47)	83,6 (37)
		Médiane (IQR)	643 (19-5034)	14 (1-222)	7 (2-66)	18 (1-120)
	Non répondeurs	Moyenne (SEM)	9333,6 (3693)	1892 (1265)	1632 (1559)	6267,1 (5070)
		Médiane (IQR)	2270 (276-16223)	467 (262-1258)	117 (16-160)	1916,2 (2-8181)
Néoptérine pmol/g	Répondeurs	Moyenne (SEM)	334,7 (56)	360,4 (121)	366,5 (119)	180,8 (55)
		Médiane (IQR)	296 (171-428)	157 (64-436)	97 (65-584)	78 (52-221)
	Non répondeurs	Moyenne (SEM)	456,2 (100)	553,6 (216)	311,3 (119)	520,5 (116)
		Médiane (IQR)	337 (233-660)	190 (74-740)	205 (71-411)	458 (382-597)
Zonuline (ng/mL)	Répondeurs	Moyenne (SEM)	68 (10)	97 (19)	72 (10)	80 (19)
		Médiane (IQR)	64 (53-66)	63 (51_98)	65 (50-87)	58 (43-82)
	Non répondeurs	Moyenne (SEM)	56 (11)	117 (47)	76 (24)	179 (120)
		Médiane (IQR)	49 (28-79)	68 (41-116)	48 (35-78)	76 (48-207)

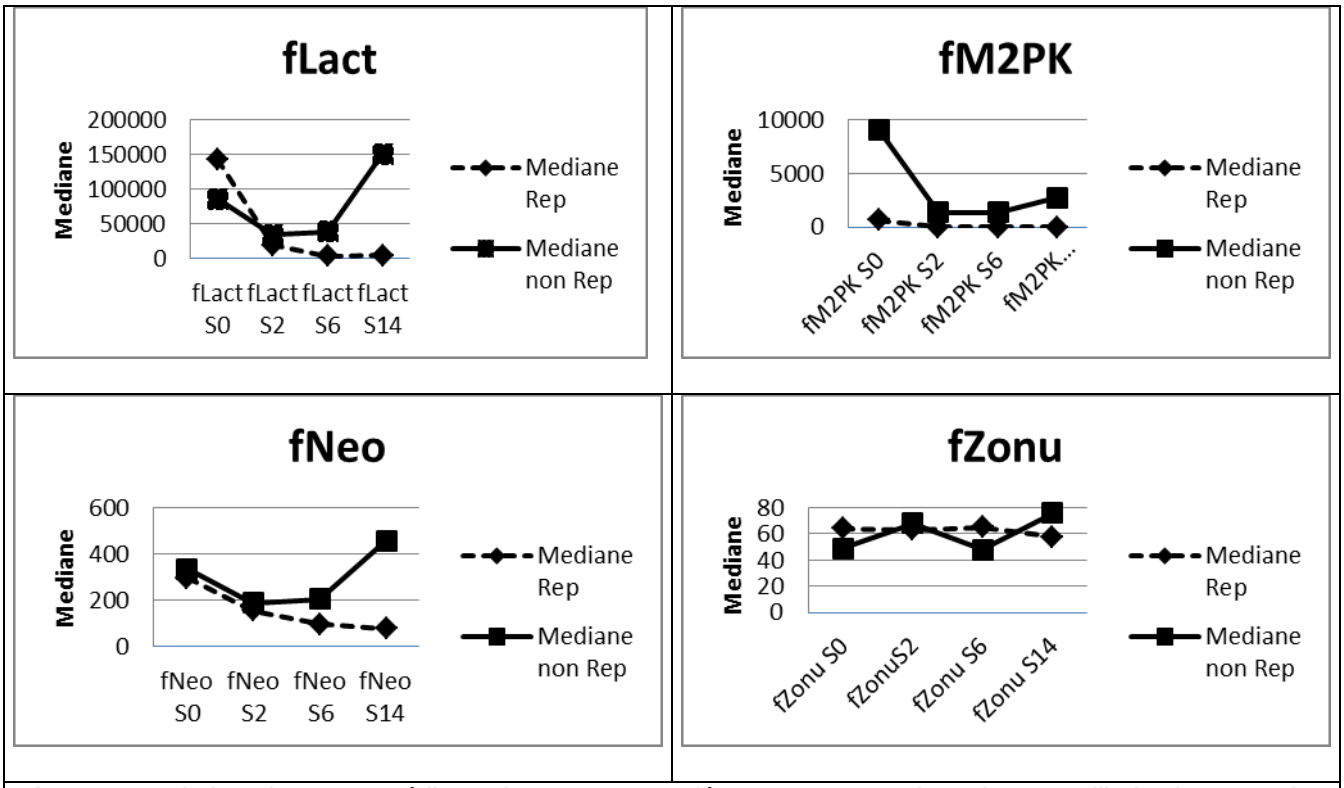


Fig 13 : Evolution des taux médians des marqueurs fécaux au cours du traitement d'induction pour les patients répondeurs et non répondeurs

Tableau 10 : Résultats des analyses ANOVA chez les patients répondeurs et non répondeurs à l'induction, pour chaque marqueur fécal.

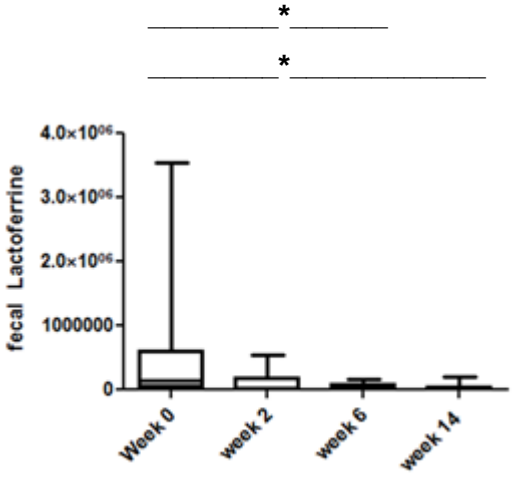
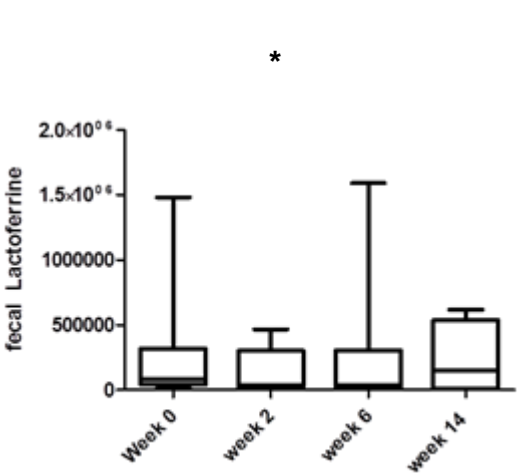
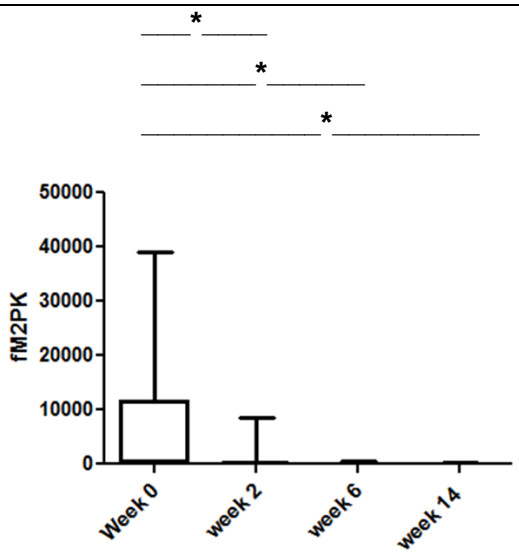
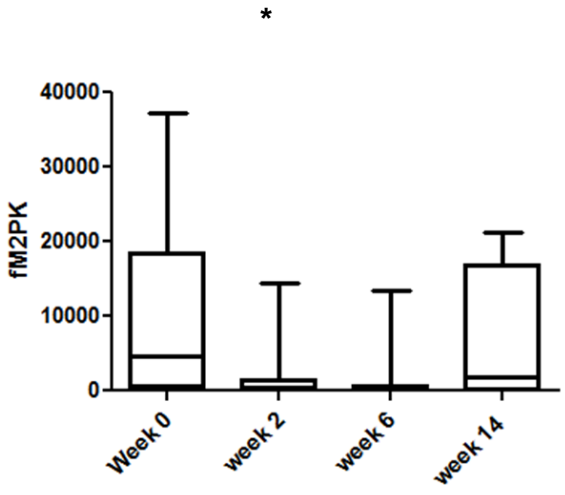
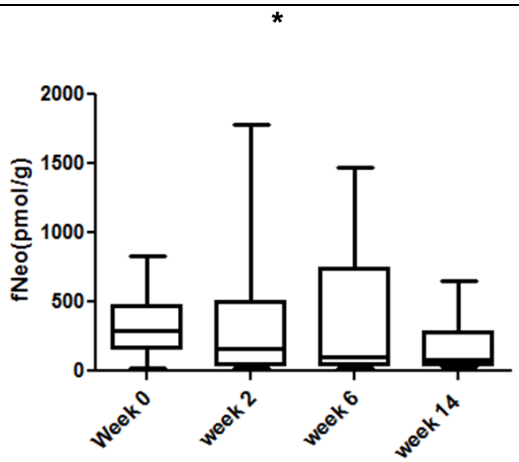
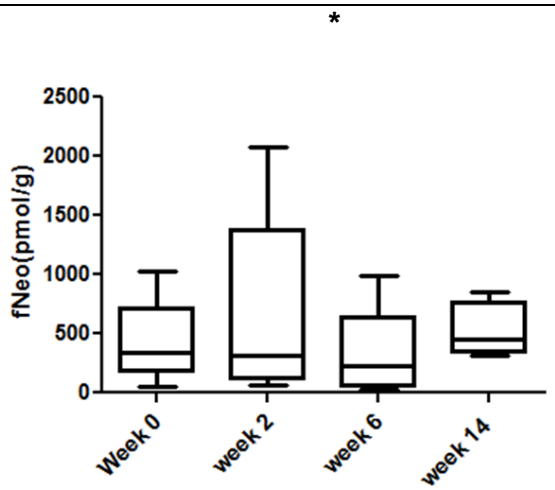
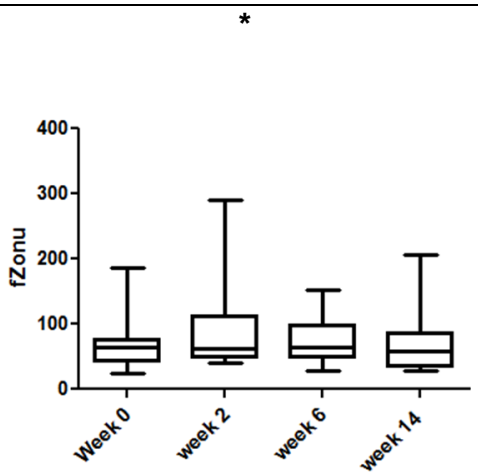
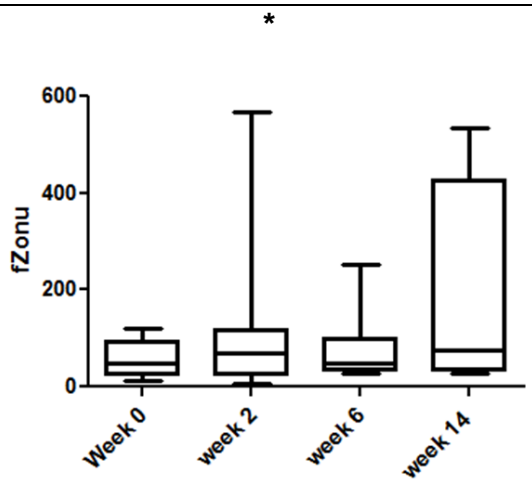
Marqueur	Répondeurs	Non Répondeurs
Lactoferrine (ng/g)		
	***ANOVA p=0,007**	*** ANOVA p=0,63**

Tableau 10 (suite) : Résultats des analyses ANOVA chez les patients répondeurs et non répondeurs à l'induction, pour chaque marqueur fécal.

Marqueur	Répondeurs	Non Répondeurs
M2PK UI/mL	 *** ANOVA p= 0,0019**	 *** ANOVA : p=0,15**
Néoptérine pmol/g	 ***ANOVA p=0,28**	 *** ANOVA p=0,60**
Zonuline ng/mL	 *** ANOVA : p=0,63**	 *** ANOVA : p=0,63**

III-4- Corrélation entre la valeur basale des marqueurs fécaux et la réponse au traitement d'induction.

III-4-1- Pour la calprotectine fécale

Nous avons analysé la relation entre les taux des marqueurs fécaux à l'inclusion (S0) et la réponse clinique au traitement d'induction (S14), dans l'hypothèse où des marqueurs très élevés avant la mise en place de l'infliximab seraient prédictifs d'une mauvaise réponse à l'induction.

La calprotectine fécale à S0, avec une AUC à 0,60, n'est pas un test discriminant pour différencier les patients répondeurs des non répondeurs à S14 (Fig 14).

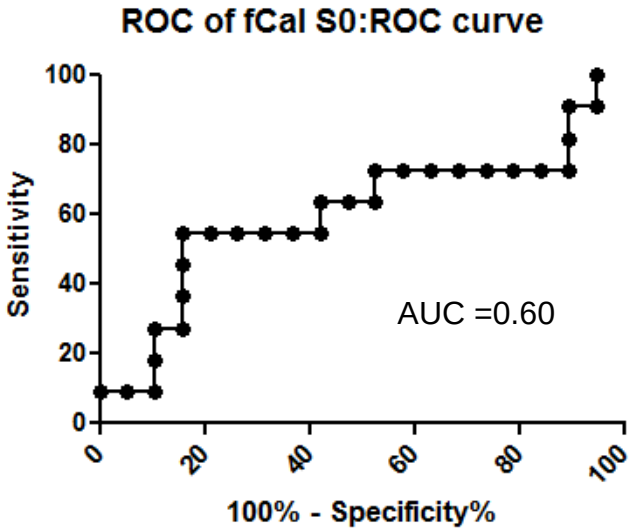


Figure 14 : Courbe ROC pour la capacité de la calprotectine fécale à S0 à prédire la réponse clinique à S14

Les taux moyens et médians de calprotectine fécale chez les patients répondeurs et non répondeurs à l'induction figurent dans le tableau 11 et la figure 15 : on note l'absence de différence significative entre les deux groupes.

Tableau 11: Caractéristiques des taux de calprotectine fécale à l'inclusion chez les répondeurs et les non répondeurs			
	Répondeurs à S14	Non répondeurs à S14	p
Nombre de patients	19	12	
Médianes des taux de calprotectine à S0 (IQR)	4260 (1529- 7068)	9077 (2129- 14138)	p=0,35
Moyennes des taux de calprotectine à S0 (SEM)	6389 (SEM 1741)	11679 (SEM 4348)	p=0,35

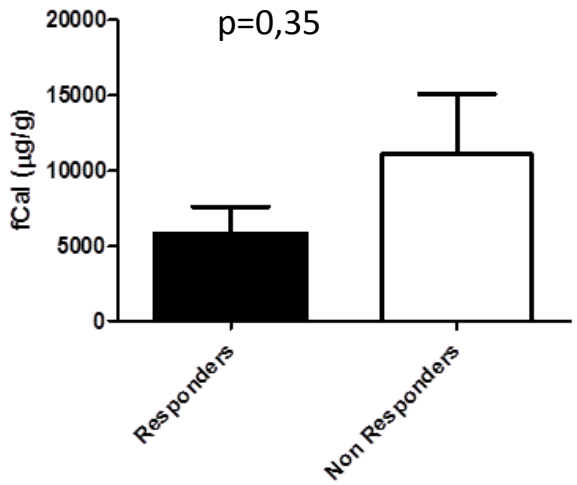


Figure 15: Différence entre les taux moyens de calprotectine fécale à l'inclusion chez les répondeurs et les non répondeurs

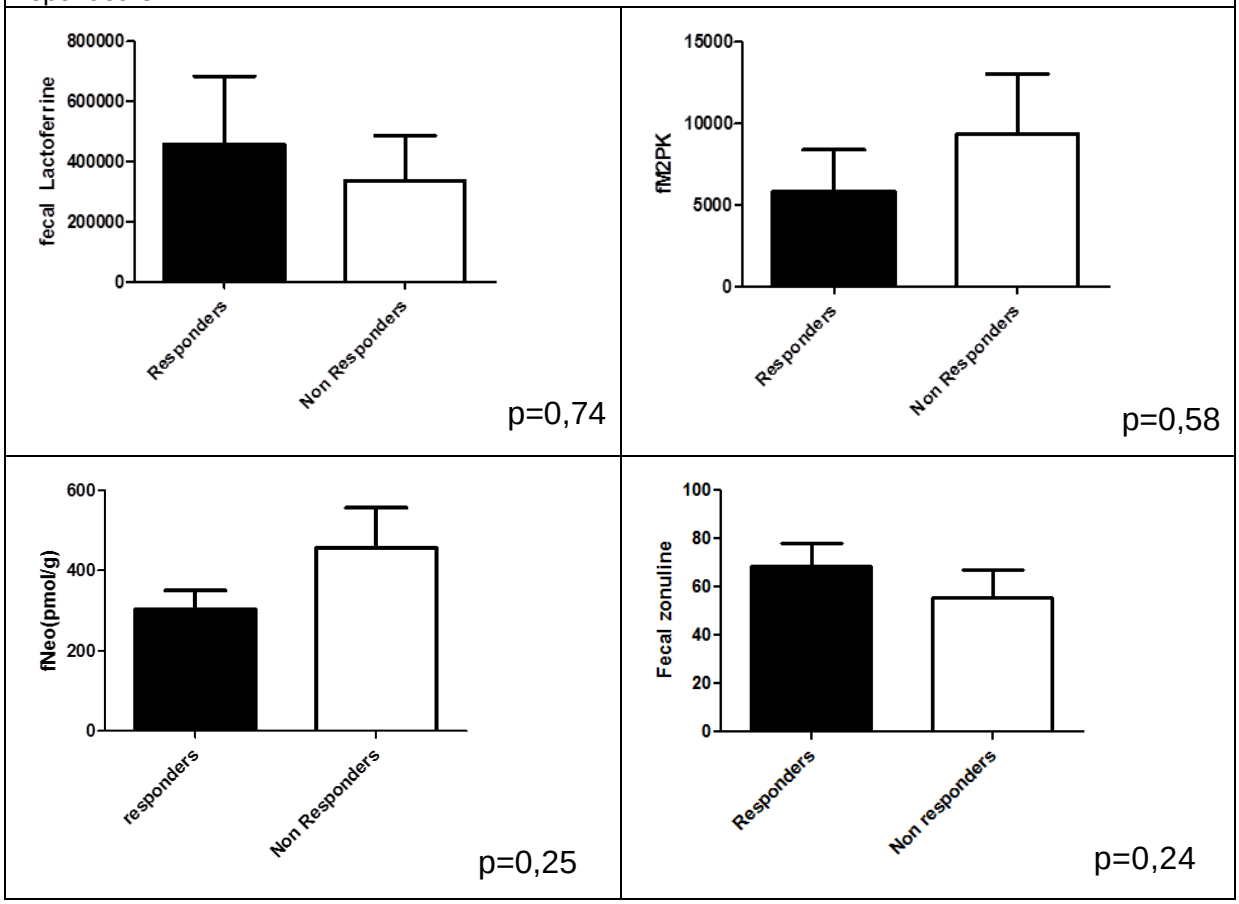
III-4-2- Pour les autres marqueurs

Les résultats des courbes ROC réalisées pour les autres marqueurs fécaux montrent qu'ils sont également de mauvais outils pour discriminer les patients qui seront répondeurs ou pas à l'issue du traitement d'induction. (Tableau 12)

Tableau 12 : AUC pour la performance des marqueurs à S0, à différencier les patients répondeurs ou non à S14	
Marqueur fécal	**AUC**
Neopterine	0,63
Zonuline	0,63
M2PK	0,56
Lactoferrine	0,54

De la même manière qu'avec la calprotectine, on constate que les taux des autres marqueurs fécaux ne diffèrent pas significativement entre les groupes de patients répondeurs et non répondeurs à l'induction. (Fig 16)

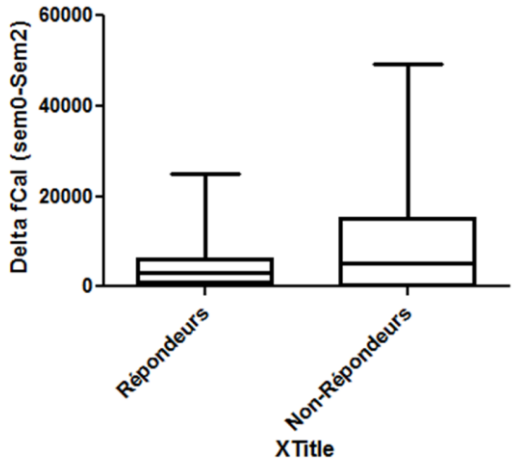
Fig 16: Moyennes des différents marqueurs à l'inclusion chez les patients répondeurs et non répondeurs



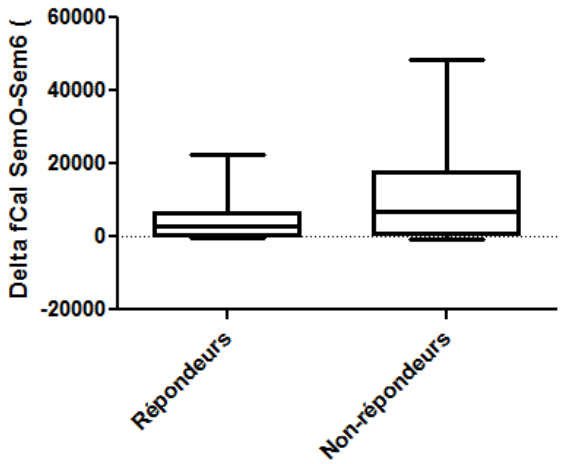
III-5- Relation entre la décroissance des taux de calprotectine entre S0 et S2 ou S6 et la réponse clinique au traitement d'induction.

Nous avons ensuite étudié la relation entre le delta des taux de calprotectine fécale entre S0 et S2/S6 et la réponse au traitement d'induction : aucune différence significative n'a été objectivée chez les patients répondeurs ou non répondeurs, que ce soit entre S0 et S2 ou entre S0 et S6. (Tableau 13 et Fig 17)

Tableau 13: Cinétiques des taux de calprotectine entre S0 et S2/S6 pour les patients répondeurs et non répondeurs.			
		Patients répondeurs	Patients non répondeurs
Delta S0-S2	Moyenne (SEM)	5554 (1684)	9799 (4279)
	Médiane (IQR)	3106 (655-6071)	5009 (155-14942)
Delta S0-S6	Moyenne (SEM)	4571 (1465)	11818 (6753)
	Médiane (IQR)	2788 (82-6463)	6906 (0-20276)



p=0,5



p=0,28

Fig 17 : Delta des taux de calprotectine entre S0 et S2 chez les patients répondeurs et non répondeurs à l'induction

Delta des taux de calprotectine entre S0 et S6 chez les patients répondeurs et non répondeurs à l'induction

III-6- Corrélation entre les taux de marqueurs fécaux à S2 et la réponse clinique au traitement d'induction.

Nous avons par la suite étudié la relation entre les concentrations de marqueurs fécaux à la semaine 2 et la réponse clinique à l'issue du traitement d'induction (S14), à l'aide de courbes ROC (Tableau 14).

Tableau 14 : AUC pour la performance des marqueurs à S2, à différencier les patients répondeurs ou non à S14	
Marqueur fécal	**AUC**
M2PK	0,88
Lactoferrine	0,84
Calprotectine	0,82
Neopterine	0,62
Zonuline	0,38

Les marqueurs ayant les meilleurs pouvoirs discriminants à S2 pour différencier les patients répondeurs des patients non répondeurs au traitement d'induction à S14, sont la M2PK, la lactoferrine et la calprotectine avec des AUC respectives à 0,88 ; 0,84 et 0,82.

Nous avons donc recherché pour les marqueurs semblant performants, les seuils optimaux permettant de discriminer au mieux les patients non répondeurs des patients répondeurs (tableau 15). Ainsi, un taux de calprotectine fécale inférieur à 800µg/g à S2 permet de prédire une réponse au traitement d'induction avec une sensibilité de 82% et une spécificité de 69%. De même, un taux de lactoferrine inférieur à 20000ng/g et un taux de M2PK de moins de 50 UI/mL ont des sensibilités respectives de 81 et 88% et des spécificités de 70 et 80% pour la prédiction d'une réponse clinique à l'induction.

Tableau 15: Performance des différents marqueurs aux meilleurs seuils définis à S2 pour discriminer les patients répondeurs des non répondeurs au traitement d'induction

Marqueurs	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	VPP (%)	VPN (%)	Performance diagnostique (%)
Calprotectine 800 µg/g	82	69	78	75	77
Neopterine 150 pmol/g	56	54	64	46	56
M2PK 50 UI/mL	88	80	88	80	84
Lactoferrine 20000 ng/g	81	70	81	70	77
Zonuline ng/mL	/	/	/	/	/

Nous avons également cherché à savoir si le fait de combiner les différents marqueurs (à S2) entre eux permettait d'augmenter la possibilité de discriminer les patients répondeurs des patients non répondeurs à l'induction. Nous avons donc choisi les deux marqueurs présentant les meilleures performances diagnostiques : la lactoferrine et la M2PK. (Tableau 16)

Les résultats obtenus sont bons avec des sensibilités et des spécificités élevées, cependant le gain semble faible par rapport à l'utilisation des marqueurs de façon isolée.

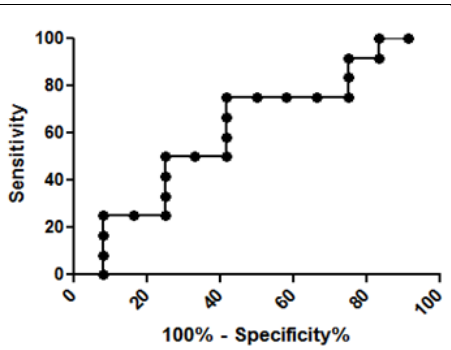
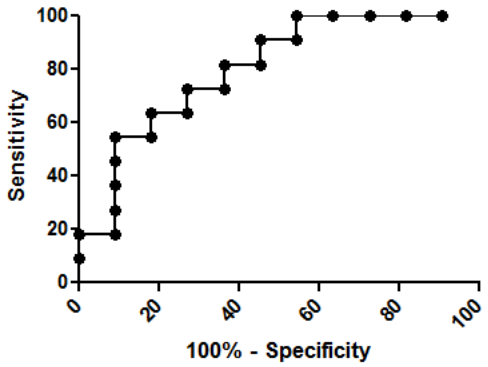
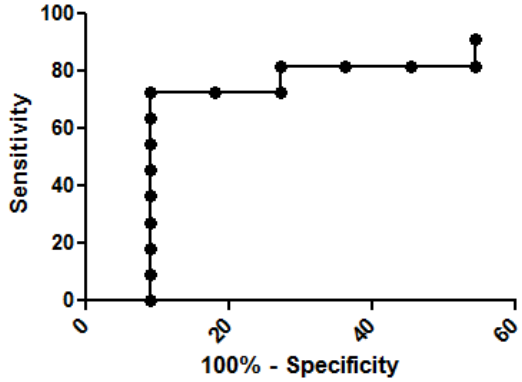
Tableau 16 : Performance de la lactoferrine et de la M2PK combinées à S2 pour discriminer les patients répondeurs des non répondeurs au traitement d'induction

Marqueurs	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	VPP (%)	VPN (%)	Performance globale (%)
Lactoferrine > 20000 ng/g **ET** M2PK>50 UI/mL	76	93	93	76	84
Lactoferrine > 20000 ng/g **OU** M2PK>50 UI/mL	82	71	78	77	77

III-7- Corrélation entre les taux de calprotectine fécale à S2 et la rémission endoscopique à S12

Puisque la calprotectine, la lactoferrine et la M2PK peuvent aider à prédire la réponse clinique à S14, nous avons analysé leur performance à prédire la réponse endoscopique à l'induction. Nous rappelons que la rémission endoscopique était définie par un sous score endoscopique de Mayo de 0 ou 1 à S12.

Il en résulte que la calprotectine fécale, avec une AUC à 0,61 (p=0,32), semble moins performante pour prédire la rémission endoscopique que la réponse clinique. En revanche, la lactoferrine et la M2PK, avec des AUC respectives à 0,80 (p=0 ,01) et 0,78 (p=0,02), semblent être de bons outils à S2 pour prédire la rémission endoscopique : avec un seuil de 32891 ng/g pour la lactoferrine et de 328 UI/mL pour la M2PK, on obtient des sensibilités identiques à 72 % et des spécificités respectives de 72 et 90% (Tableau 17).

Tableau 17 : Performances de la calprotectine, la lactoferrine et la M2PK à S2 pour la prédiction de la rémission endoscopique à S12		
Marqueurs et AUC	**Courbes ROC**	**Seuil proposé avec les sensibilités et spécificités associées**
Calprotectine : AUC=0,61 p=0,32		→ **817 µg/g :** Se=75% Sp=58%
Lactoferrine AUC =0,80 p=0,01		→ **24731 ng/g** Se=81% Sp=63% → **32891 ng/g** Se=72% Sp=72%
M2PK AUC =0,78 p=0,02		→ **328 UI/mL** Se= 72 % Sp= 90 %

III-8- Corrélation entre les taux de marqueurs fécaux à S14 et la réponse clinique au traitement d'induction.

Nous avons étudié la capacité des marqueurs fécaux à S14, à distinguer les patients répondeurs des patients non répondeurs au traitement d'induction.

Il ressort des données obtenues que c'est la calprotectine fécale qui prédomine en termes de pouvoir de discrimination des deux groupes de patients avec une AUC à 0,84, suivie de la lactoferrine avec une AUC à 0,75. Les autres marqueurs, qui présentent des AUC très proches de la valeur de 0,5, sont de mauvais outils dans ce contexte. (Fig 18)

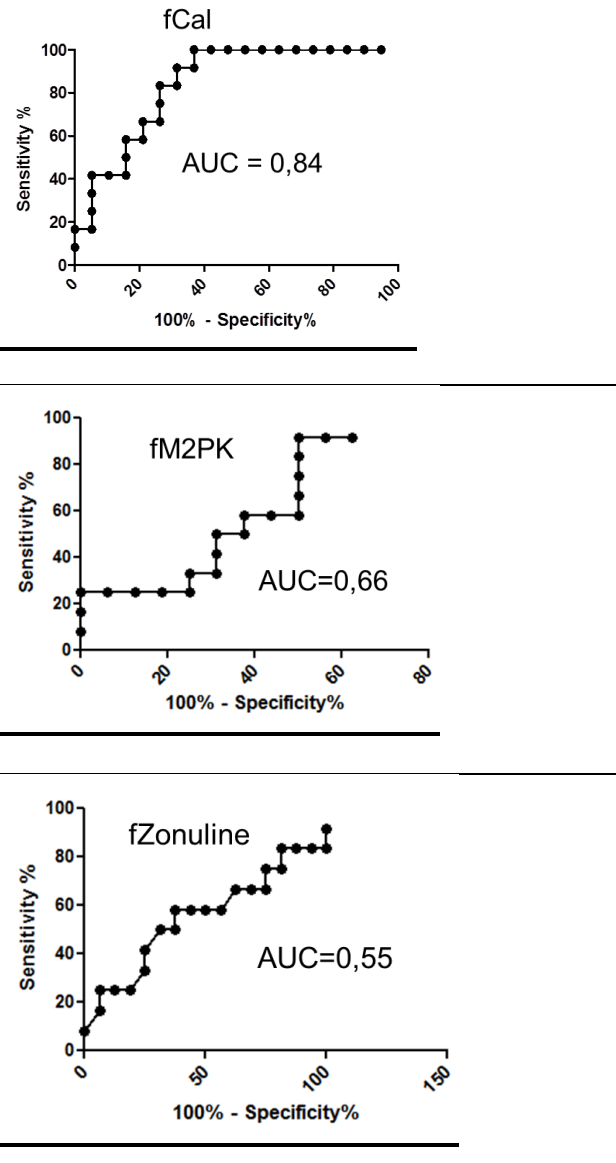


Fig 18 : Courbes ROC des biomarqueurs fécaux à S6 ou 14 dans la distinction des patients avec une réponse/rémission ou en échec après traitement d'induction

III-9- Corrélation entre les taux de marqueurs fécaux à S14 et la réponse au traitement à 1 an (S52)

III-9-1-Pour la calprotectine fécale

Nous nous sommes par la suite intéressés à la réponse au traitement à long terme. Dans notre cohorte, parmi les 19 patients en rémission clinique à la semaine 14, seulement 11 sont en réponse clinique à la semaine 52.

Si l'on considère les concentrations de calprotectine fécale à S14 chez les 19 patients répondeurs au traitement d'induction :

- 12 patients ont une calprotectine fécale ≤ 250 µg/g à S14. Parmi ceux-ci, 8 patients ont une réponse clinique prolongée sous IFX à la semaine 52.
- 8 patients (42 %) ont une calprotectine fécale ≤ 100 µg/g à S 14. Parmi ceux-ci, 7 ont une réponse prolongée sous IFX à la semaine 52.

Ces chiffres laissent donc penser que le fait de considérer les taux de calprotectine fécale à S14 serait plus informatif pour prédire la réponse à long terme que de prendre en compte simplement la réponse clinique au traitement d'induction.

Il en résulte que la calprotectine fécale à S14 est un très bon outil pour distinguer les patients répondeurs des patients non répondeurs à 1 an, avec une AUC à 0,82 ; IC [0,65-0,99] ; p <0,003 (Fig 19).

Le seuil optimal à utiliser semble se situer autour de 100µg/g, puisque avec un seuil de 146 µg/g par exemple, on retrouve une sensibilité de 90% et une spécificité de 72%. (Tableau 18).
Si l'on constitue une courbe de survie avec le taux de rechute au fil du temps selon que le taux de calprotectine fécale était supérieur ou inférieur à 146 µg/g à S14, on constate une nette séparation des deux groupes de patients, qui apparait significative (p= 0,018). (Fig 20)

Fig 19 : Performance de la calprotectine fécale dosée à S14 pour identifier les patients en rémission clinique à S52

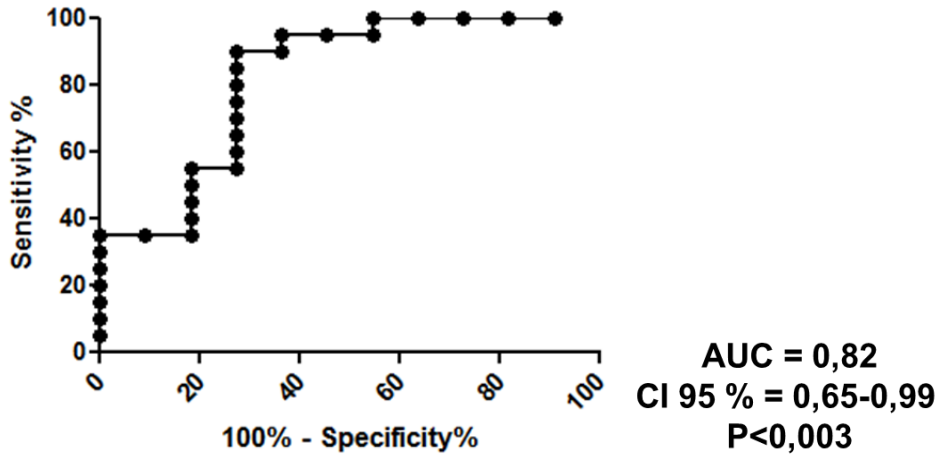


Tableau 18 : Sensibilité et spécificité de la calprotectine fécale à S14, en fonction des différents seuils choisis, pour prédire la réponse clinique à S52.

Seuil	Sensibilité	Spécificité
91	95 %	63 %
100	95%	63%
123	90 %	63 %
146	90 %	72 %
166	85 %	72 %
192	80 %	72 %
264	75 %	72 %

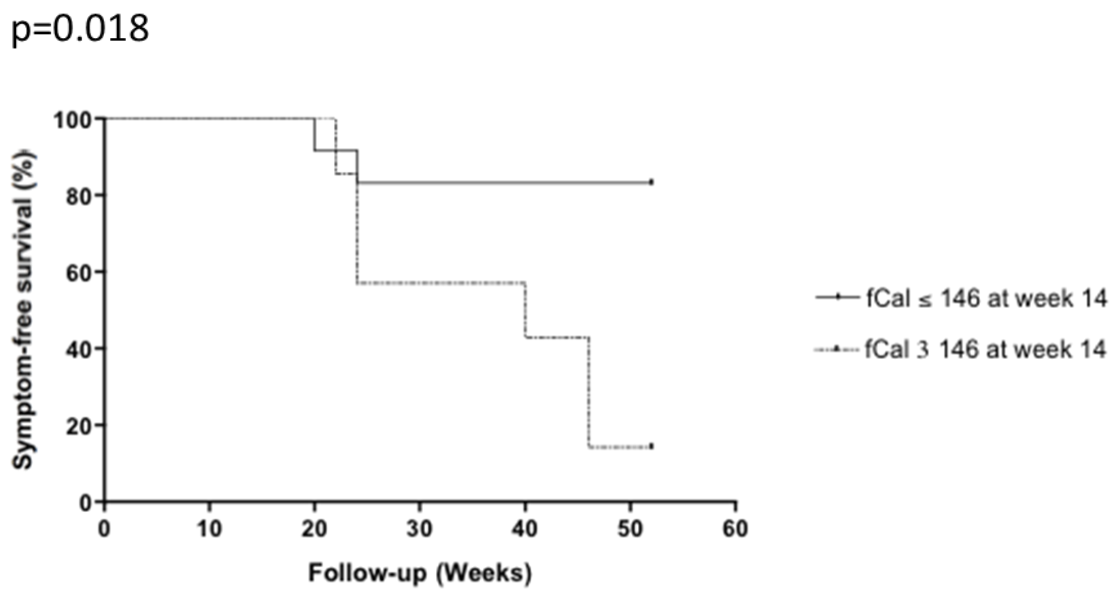


Fig 20 : Courbe de survie montrant le taux de rechute des patients au fil du temps en fonction de la concentration de calprotectine fécale à S14.

III-9-2- Pour les autres marqueurs

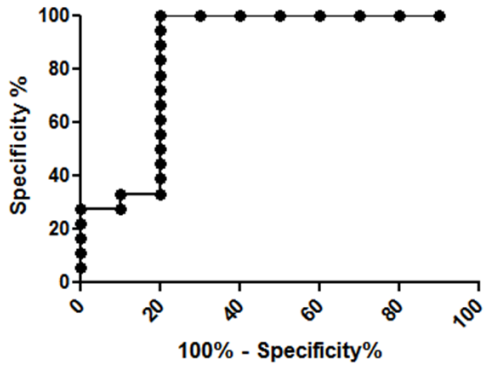
Parmi les autres marqueurs fécaux, la lactoferrine, avec une AUC à 0,86, présente la meilleure performance de prédiction de la réponse à S52. La M2PK se place en troisième position après la calprotectine fécale, avec une AUC à 0,75. Quant à la néopterine et la zonuline, elles présentent dans ce contexte, un pouvoir de discrimination médiocre (AUC respectivement à 0,64 et 0,63). (Fig 21)

Figure 21 : Performances des différents marqueurs fécaux à S14 pour prédire la réponse clinique à 1 an.

Lactoferrine

AUC =0,86

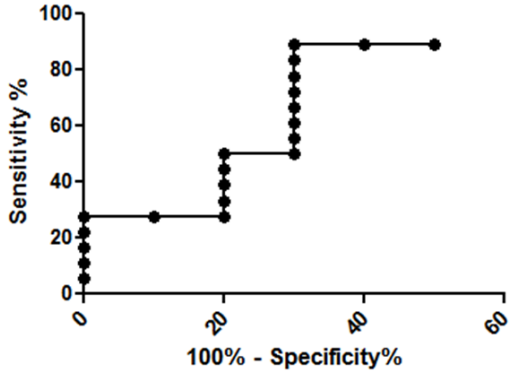
CI 95 % = 0,68-1,04



M2PK

AUC= 0,75

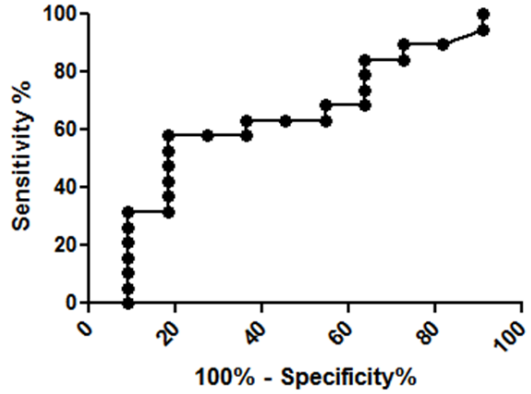
CI 95 % = 0,55-0,95



Néopterine

AUC = 0,64

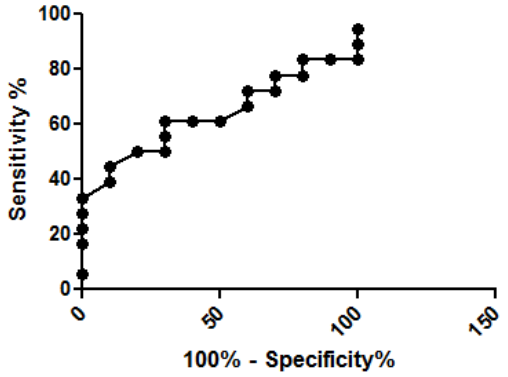
CI 95 % = 0,43-0,85



Zonuline

AUC= 0,63

CI 95 % = 0,43-0,83



Nous avons également recherché, pour chacun des marqueurs semblant performants, les seuils optimaux (à S14) pour la discrimination des patients en réponse clinique et des patients en échec à S52. Leurs sensibilités, spécificités, valeurs prédictives positives et négatives sont regroupées dans le tableau 19. Ainsi, un taux de calprotectine inférieur à 146 µg/g, un taux de lactoferrine inférieur à 3457 ng/g et un taux de M2PK de moins de 2,25 UI/mL, prédisent la réponse clinique à S52 avec des spécificités et sensibilités largement acceptables. (Tableau 19)

Tableau 19 : Performance des différents marqueurs aux meilleurs seuils définis à S14 pour discriminer les patients répondeurs des non répondeurs à un an (S52)

Marqueurs	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	VPP (%)	VPN (%)	Performance diagnostique (%)
Calprotectine 100 µg/g ou 146 µg/g	95 90	63 72	83 86	88 80	84 84
Neopterine 150 pmol/g	63	63	75	50	63
M2PK 2,5 UI/mL ou 2,25 UI/mL	83 88	70 70	83 84	70 78	78 82
Lactoferrine 2000 ng/g 3457 ng/g	100 100	70 80	86 90	100 100	89 93
Zonuline	NR	NR	NR	NR	NR
Score de Mayo partiel à 3/9	68	82	87	60	73

En combinant, comme nous l'avons fait précédemment, le meilleur marqueur fécal dans ce contexte (la lactoferrine à S14) et le score de Mayo partiel à S14, on n'arrive pas réellement à augmenter les performances diagnostiques pour discriminer les patients répondeurs des patients non répondeurs à S52. (tableau 20)

Tableau 20: Performance de la lactoferrine et du score de Mayo partiel combinés à S14, pour discriminer les patients répondeurs des non répondeurs à S52.

Marqueurs	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	VPP (%)	VPN (%)	Performance diagnostique (%)
Lactoferrine > 2000 ng/g **ET** PMS>3	65	82	87	56	71
Lactoferrine >2000 ng/g **OU** PMS>3	90	73	86	80	84

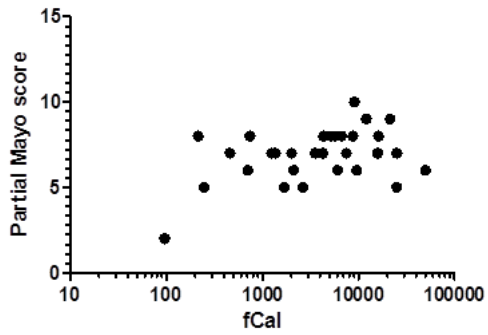
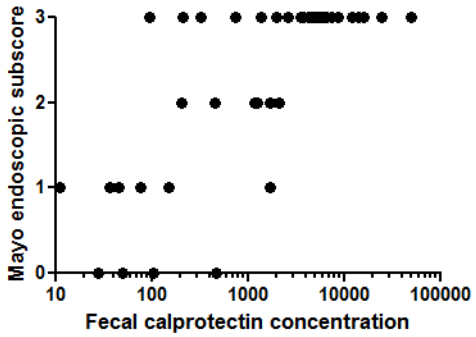
III-10- Corrélations entre les différents marqueurs fécaux et les scores endoscopiques.

III-10-1- Pour la calprotectine fécale

Nous avons analysé la corrélation entre les taux de calprotectine fécale et le score de Mayo ou l'UCEIS.

Pour ce qui est de la corrélation entre le score de Mayo endoscopique et la calprotectine fécale, elle est bien meilleure qu'avec le score de Mayo partiel, avec un résultat significatif : r=0,73 [IC95% (0,54-0,85)], p< 0,0001 versus r=0,28 [IC95% (-0,11 -0,59)], p=0,14 (Tableau 20)

Tableau 21 : Corrélations entre le score de Mayo partiel ou le sous score endoscopique de Mayo et les taux de calprotectine fécale.

	
r=0,28 ; IC95% (-0,11-0,59) ; p=0,14	r=0,73 ; IC95% (0,54-0,85) ; p<0,0001

La corrélation entre l'UCEIS et la calprotectine fécale est également bonne, et ce, de façon significative avec un indice de corrélation à 0,64 (p<0,001) (Fig 22)

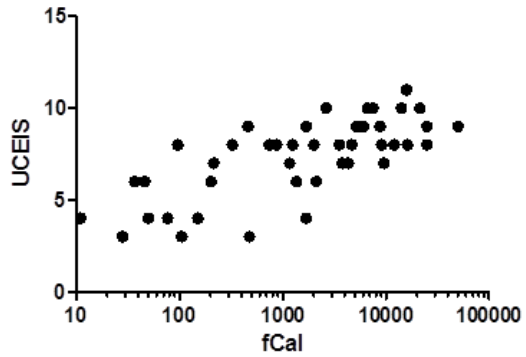
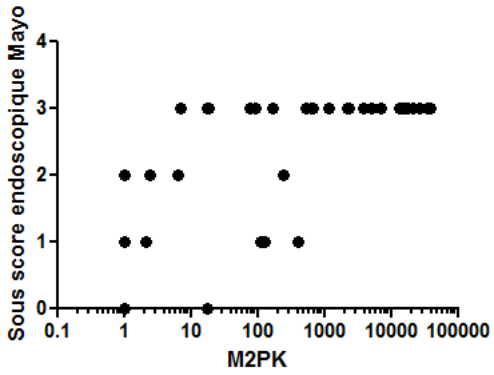
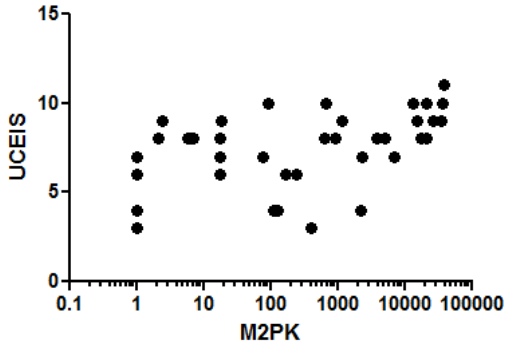
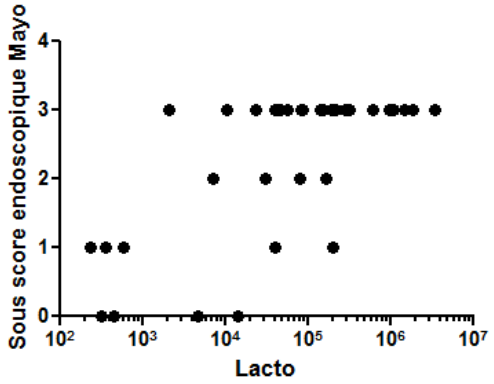
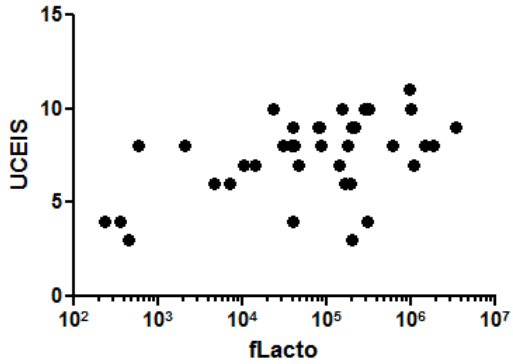


Figure 22 : corrélation entre l'UCEIS et la calprotectine fécale à S0 et S14 : r=0,64, p<0,001

III-10-2- Pour les autres marqueurs

Nous avons également étudié la corrélation entre les deux meilleurs marqueurs retrouvés dans notre étude (la lactoferrine et la M2PK) et les deux scores endoscopiques. Les résultats sont présentés dans la figure 23: on constate que le score de Mayo présente une meilleure corrélation avec les deux marqueurs fécaux, que l'UCEIS : la meilleure corrélation et celle entre la M2PK et le score de Mayo endoscopique (r=0,68, p<0,001)

Fig 23 : Corrélation entre les scores endoscopiques (Mayo et UCEIS) et les marqueurs fécaux

M2PK	 r=0,68 P<0,001	 r= 0,48 p=0,002
Lactoferrine	 R=0,63 P=0,0001	 R=0,39 P=0,01

III-11- Corrélations entre les différents marqueurs fécaux.

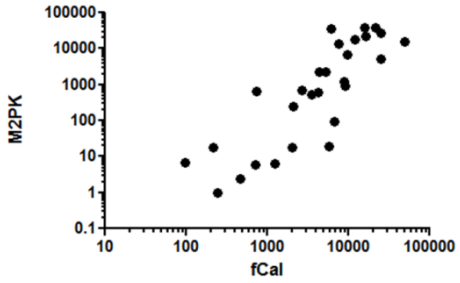
Dans la dernière étape de notre étude, nous avons cherché à savoir si, à la vue de l'ensemble des données dont nous disposions à S0 sur la totalité des patients, il existait une bonne corrélation entre les marqueurs fécaux étudiés et la calprotectine fécale, qui a déjà fait la preuve de son utilité dans de nombreuses études, comme nous l'avons vu auparavant.

Les résultats obtenus sont reportés dans la figure 24

Fig 24 : Indices de corrélation de Spearman pour les différents marqueurs et la calprotectine fécale.

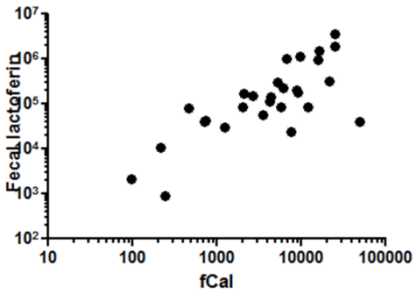
M2PK

r=0,85



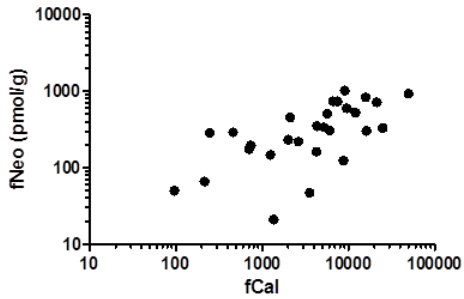
Lactoferine

r=0,70



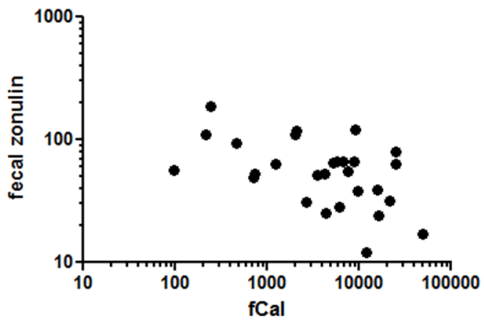
Neopterine

r=0,68



Zonuline

r=0,24



Nous constatons donc que les meilleures corrélations sont retrouvées avec la M2PK et la lactoferrine. L'indice de corrélation est moins bon pour la néopterine. Pour ce qui est de la zonuline, les résultats sont très mauvais avec un indice de corrélation négatif.

IV- DISCUSSION

Notre cohorte de patients, malgré son petit effectif, parait tout à fait représentative de la population générale de malades chez qui un traitement par anti TNF alpha est habituellement instauré.

En effet, si on la compare aux patients inclus dans les deux études princeps ACT1 et 2 (10), on constate des caractéristiques très similaires: il s'agissait donc de patients d'âge moyen, présentant préférentiellement des colites extensives puisque 96% des patients présentaient une colite gauche (E2) ou une pancolite (E3). Ces données sont probablement sous estimées car une partie des malades n'a pu bénéficier à l'inclusion que d'une coloscopie incomplète ou d'une RSF, parfois d'ailleurs en raison de la sévérité de l'atteinte : nous avons néanmoins classé ces patients par défaut dans le catégorie E2. Par ailleurs, les patients inclus dans notre travail étaient porteurs de RCH globalement sévères puisque la moyenne des scores de Mayo partiels se situait aux alentours de 7/9, et celle des sous scores endoscopiques à 2,8/3. Enfin, 40% des patients étaient traités à l'inclusion par des corticoïdes systémiques à une dose supérieure à 20 mg/jour.

En ce qui concerne la réponse clinique au traitement d'induction, nous avons objectivé des taux très proches de ceux rapportés dans les deux études, bien que dans ces travaux, elle ait été évaluée à S8 (versus S14 dans notre travail) : 61% dans notre cohorte, contre 69,4% dans ACT1 et 64,5% dans ACT 2. De même, la proportion de patients en réponse clinique soutenue à un an dans notre étude est de 35,5%, très voisine du chiffre rapporté dans ACT 1 : 38,8%, et ce, malgré le fait que notre définition de la réponse à S52 était moins stricte que dans les études princeps. Cela est lié au fait que, lorsque nous avons consulté les dossiers des patients un an après leur inclusion, nous ne disposions pas forcément des scores de Mayo. Nous avons donc pris le parti de définir la réponse à S52 comme une poursuite du traitement anti TNF, sans modification de dose ou d'intervalle de perfusion. Les patients chez qui un changement ou un ajout de thérapeutique avait été réalisé, étaient bien sûr considérés en échec.

Par rapport à la littérature, nos taux de calprotectine fécale semblent particulièrement élevés. En effet, la médiane des taux à l'inclusion était de 4774 µg/g dans notre étude (ELISA EK Cal) contre 1150 µg/g dans l'étude de Hamailainen (59) (Méthode ELISA, PhiCal Test), et 1173 µg/g dans l'étude de Tania Sipponen (60) (Méthode ELISA, PhiCal Test), sous réserve que ces deux études portaient respectivement sur une population de MICI pédiatriques, et sur des patients adultes porteurs de maladies de Crohn. En revanche, l'étude de De Vos (61), qui portait exactement sur la même population que la nôtre (patients adultes porteurs de RCH), retrouvait aussi des taux inférieurs à l'inclusion : médiane de 1260 µg/g (Méthode ELISA,

PhiCal Test). Cette différence est probablement expliquée par le fait que les techniques de dosage étaient différentes, puisque les caractéristiques des RCH incluses, en termes de sévérité, étaient très similaires à celles de nos patients.

Notre travail confirme plusieurs notions déjà évoquées dans le domaine de la cinétique des marqueurs fécaux et de leur utilité pour le suivi des patients porteurs de RCH et traités par infliximab. Tout d'abord, dans le cadre du traitement d'induction, on constate que l'instauration de l'infliximab entraîne une décroissance des taux de calprotectine fécale : cette donnée avait déjà été mise en avant dans deux études. Le premier travail était celui d'Hamailainen et al (59). Cette étude observationnelle portait sur une petite population d'enfants porteurs de maladies de Crohn (23 patients) et de rectocolites hémorragiques (13 patients). Les taux médians passaient de 1150 µg/g à S0 à 345 µg/g à S6, avec une ré ascension des taux à S6. Aucune corrélation n'ayant été réalisée avec la réponse clinique ou endoscopique, les auteurs avaient supposé qu'il s'agissait d'un échappement thérapeutique. De même, l'étude belge de de Vos (61) portant sur 53 patients porteurs de RCH, retrouvait une décroissance significative des taux médians entre S0 et S10 : 1260 µg/g à S0 versus 72,5 à S10 ($p<0,001$). Dans notre travail, les taux médians diminuaient significativement de 4774 µg/g à S0, à 192 µg/g à S14 ($p=0,0027$) dans la population globale ; en s'intéressant à la cinétique en fonction de la réponse clinique, cette décroissance restait significative dans le groupe de patients répondeurs à l'induction ($p=0,0001$), contrairement aux non répondeurs ($p=0,289$) : en effet, dans cette dernière catégorie de patients, on observait très nettement une ré ascension des taux entre S6 et S14, illustrant l'échappement thérapeutique.

De manière plus pertinente, comme dans le travail de de Vos (61), nous avons pu mettre en évidence un seuil à S2, prédictif d'une réponse au traitement d'induction. Ainsi, un taux de calprotectine inférieur à 800µg/g a une sensibilité de 82% et une spécificité de 69% pour prédire la réponse clinique à S14, et un taux inférieur à 817 µg/g a une sensibilité de 75% et une spécificité de 58% pour prédire la rémission endoscopique à S12. Nos résultats, bien que non significatifs ($p=0,32$) semblent meilleurs que ceux obtenus dans l'étude belge, puisqu'ils retrouvaient, pour un seuil de 50µg/g à S2 et/ou une décroissance de 80% du taux de calprotectine, une sensibilité de 54% et une spécificité de 67% pour prédire la rémission endoscopique. De plus, l'originalité de notre travail a été l'étude de deux autres marqueurs jamais évalués dans cette situation et semblant plus pertinents que la calprotectine: il s'agit de la M2PK et de la lactoferrine. Avec un taux de M2PK inférieur à 50 UI/ml et un taux de lactoferrine inférieur à 20000 ng/g on obtenait des sensibilités respectives de 88% et 81 %, et des spécificités de 80 et 70% pour prédire la réponse clinique à S14. Pour prédire la rémission endoscopique à S12, des seuils à S2 de 328 UI/ml pour la M2PK et de 32891 ng/g pour la lactoferrine présentaient des sensibilités identiques à 72% et des spécificités respectives de 90

et 72% (résultats significatifs). Ces données semblent très intéressantes car elles pourraient avoir une implication directe dans la pratique clinique : en proposant un dosage systématique de l'un de ces trois marqueurs à S2, on pourrait identifier rapidement les patients susceptibles d'échapper au traitement d'induction, et leur proposer par exemple une optimisation précoce de l'infliximab (intensification de dose de 5 à 10 mg/kg dès S6).

Nous avons également obtenu des résultats encourageants concernant la réponse soutenue à l'infliximab (à 52 semaines), en confirmant les données de Molander et al. En effet, nous avons mis en évidence une très bonne corrélation entre les taux de calprotectine à S14 et la réponse clinique à 1 an (AUC à 0,82, IC95% [0,65-0,99] , p<0,003). Pour un taux de calprotectine inférieur au seuil de 146 µg/g à S14, nous pouvons prédire la réponse clinique à 1 an avec une sensibilité de 90% et une spécificité de 72%. Ces résultats sont très voisins de l'étude de Molander et al. qui comportait une population de 60 patients (34 maladies de Crohn et 26 RCH), chez qui un traitement par anti TNF alpha (infliximab ou adalimumab) était instauré: avec un seuil optimal de 139 µg/g à l'issue du traitement d'induction, ils obtenaient une sensibilité de 72% et une spécificité de de 80% pour la prédiction de la rémission clinique à un an. Un seuil autour de 140µg/g semble donc assez consensuel puisque Valle Garcia-Sanchez et al. avaient constaté qu'un patient porteur de RCH quiescente avait six fois plus de risque de subir une rechute dans l'année s'il présentait un taux de calprotectine fécale de plus de 120 µg/g (55), et Gisbert et al. décrivaient pour un seuil de 150 µg/g, une sensibilité et une spécificité identiques de 69% pour prédire une rechute chez un patient présentant une MICI en rémission (53). Comme pour la réponse au traitement d'induction, la lactoferrine et la M2PK se sont distinguées dans la prédiction de la réponse clinique soutenue : avec un seuil de 34570 ng/g la lactoferrine prédit la réponse clinique à un an avec une sensibilité de 100% et une spécificité de 80%, et pour un seuil de 2,25 UI /ml la M2PK obtient des chiffres respectifs de 88 et 70%. Ces résultats pourraient impliquer, dans la pratique clinique, une surveillance rapprochée voire une optimisation précoce du traitement anti TNF alpha chez les patients présentant des taux élevés de marqueurs fécaux à la fin du traitement d'induction.

Par ailleurs, nous avons confirmé la corrélation qui existe entre les taux de calprotectine fécale et la sévérité endoscopique des lésions. La corrélation avec le sous-score endoscopique de Mayo était bonne (r=0,73 ; p< 0,0001) et comme dans la littérature, bien meilleure qu'avec le score de Mayo partiel (r=0,28, p=0,14). L'indice de corrélation était de 0,64 avec le score UCEIS (p<0,001). Les taux de M2PK et de lactoferrine étaient également corrélés au score de Mayo et, de façon moins intense, à l'UCEIS. Dans la littérature, nombreux sont les travaux qui portent cette notion de bonne corrélation entre la calprotectine et l'activité endoscopique, plaçant souvent la protéine fécale au-dessus des scores cliniques et des autres paramètres

biologiques (16,45-47,63). Les indices de corrélations y apparaissent en général plus élevés que dans notre travail : par exemple, Schoepfer et al (16) retrouvent un coefficient de Spearman à 0,821 avec l'index de Baron modifié. Nous nous attendions par ailleurs à de meilleurs indices de corrélation pour l'UCEIS que pour le score de Mayo, pour deux raisons : la première étant que l'UCEIS est le seul score à avoir été validé prospectivement ; la deuxième raison est le fait que le stade 3 du sous-score de Mayo, qui est défini par la présence d'ulcérations, recouvre une grande diversité de degrés de sévérité, allant de la présence de quelques ulcérations à des décollements muqueux mettant à nu la musculeuse. Ces moins bons résultats dans notre étude sont probablement liés à un manque de puissance dû au petit effectif de malades inclus. Cependant, à partir de l'ensemble des données de la littérature, on peut avancer l'idée que la calprotectine pourrait remplacer certaines endoscopies de réévaluation ou au moins permettre de sélectionner les patients qui y seraient candidats, et ainsi éviter un certain nombre d'examens couteux et invasifs. Cette idée est d'autant plus pertinente que l'on dispose à présent de tests ELISA rapides, semi-quantitatifs (ELISA Quantum Blue, laboratoire Bülhmann), pouvant donner un résultat en seulement 2h, pour un coût hospitalier de 43 euros, bien inférieur au coût d'une coloscopie (153,60 euros), et similaire au coût d'une rectosigmoïdoscopie (53 euros) sans l'aspect invasif de cet examen.

Concernant les nouveaux marqueurs fécaux, nous avons vu que ce sont la lactoferrine et la M2PK qui sont ressortis comme pertinents dans le cadre de la réponse au traitement à court et long terme. La surprise vient surtout de la M2PK puisque la lactoferrine avait déjà montré des performances voisines de la calprotectine dans le diagnostic de MICI (65,66), l'évaluation de l'activité de la maladie (40,67), et comme facteur prédictif de rechute (53). Il n'est donc pas étonnant que ces deux marqueurs soient les mieux corrélés à la calprotectine (r=0,70 pour la lactoferrine et 0,85 pour la M2PK).

Notre travail a cependant présenté certaines limites, probablement en partie à cause du manque de puissance de l'étude (faible effectif, difficultés des recueils itératifs de selles). Alors qu'à notre connaissance, ce point n'a jamais été étudié dans la littérature, nous nous sommes posé la question de savoir si un taux très élevé de marqueurs fécaux à S0 était prédictif d'une réponse au traitement d'induction. Il s'est avéré que le pouvoir des protéines fécales à S0 pour discriminer les patients répondeurs des patients non répondeurs à S14 était médiocre (AUC à 0,62 pour la calprotectine). Nous n'avons donc pas cherché à déterminer de seuil dans ce contexte. En revanche, pour tous les marqueurs (sauf pour la lactoferrine), les taux à S0 avaient tendance à être plus élevés chez les patients non répondeurs à l'induction (9077µg/g vs 4774 µg/g pour la calprotectine, différence non significative bien que les taux soient deux fois supérieurs chez les non répondeurs). C'est probablement pour cette raison que les deltas de décroissance des marqueurs entre S0 et S2 ou S6 avaient une tendance, également non

significative, à être plus élevés chez les non répondeurs, puisqu'ils partaient avec des chiffres plus hauts avant le début du traitement (delta médian de 3106 µg/g pour les répondeurs et de 5009 µg/g chez les non répondeurs). Nous nous attendions pourtant à trouver une tendance inverse, c'est-à-dire des deltas de décroissance plus grands dans le groupe des répondeurs, comme c'était le cas dans l'étude de de Vos et al. (61) : les auteurs relevaient en effet une décroissance entre S0 et S2 significativement plus importante chez les patients qui présentaient une rémission endoscopique à l'issue de l'induction ($p<0.001$)

En ce qui concerne les performances de la zonuline et de la néopterine à prédire la réponse au traitement d'induction et le maintien de celle-ci à un an, nous avons obtenu des résultats médiocres. Si nous n'avions aucune référence dans la littérature pour la zonuline, il existait pourtant une étude encourageante de S Nancey et al pour la néoptérine, où celle-ci montrait une performance similaire à celle de la calprotectine pour différencier les patients présentant des signes d'activité endoscopique de ceux présentant une MICI endoscopiquement quiescente. (51)

V- CONCLUSION

La calprotectine fécale permet de prédire la réponse clinique au traitement par infliximab à court et long terme. En effet, un taux inférieur à 800 µg/g à S2 permet de prédire avec une sensibilité de 82% et une spécificité de 69% la réponse clinique au traitement d'induction et un taux inférieur à 146 µg/g à l'issue de l'induction prédit avec une sensibilité de 90 % et une spécificité de 72% la réponse clinique prolongée à un an. Deux autres marqueurs, dont les taux sont bien corrélés à ceux de la calprotectine, sont apparus performants dans ce contexte, avec des sensibilités et spécificités largement acceptables : il s'agit de la lactoferrine et de la M2PK pour lesquels on peut respectivement retenir des seuils suivants : 20000 ng/g et 50 UI/mL à S2 pour la réponse clinique à S14 ; et enfin 3457ng/g et 2,25 UI/mL à S14 pour la réponse clinique à S52. Ces deux protéines fécales se sont même montrées plus performantes que la calprotectine pour prédire, à S2, la rémission endoscopique à S12 : les seuils retenus pour la lactoferrine et la M2PK étaient : 32891 ng/g et 328 UI/mL, respectivement. Enfin, la calprotectine fécale, la lactoferrine et la M2PK présentent une bonne corrélation avec le sous score endoscopique de Mayo et à un moindre degré, avec l'UCEIS.

Notre étude permet de conclure que, dans la pratique quotidienne, le dosage de ces marqueurs non invasifs à S2 et S14 pourraient permettre d'anticiper l'échec du traitement par infliximab chez les patients dont les taux seraient élevés, et de réaliser des adaptations thérapeutiques précoces (optimisation ou changement de molécule). Le dosage des marqueurs fécaux pourrait également se substituer à certaines endoscopies de réévaluation, afin d'éviter des examens coûteux et invasifs.

ANNEXES

Annexe 1 : Score de Mayo (ou UC-DAI)

Groupe d'Etude Thérapeutique des Affections Inflammatoires du Tube Digestif

Date [_ _ / _ _ / _ _] Initiales patient |___|___|/|___|___|

Mayo-score
UC-DAI (Ulcerative colitis Disease Activity Index)
(À remplir par le médecin lors de la consultation et de l'endoscopie)

Fréquence des selles	❑ 0 : Normale ❑ 1 : 1 à 2 selles en plus du nombre habituel ❑ 2 : 3 à 4 selles en plus du nombre habituel ❑ 3 : >5 selles en plus du nombre habituel	I__I
Présence de sang dans les selles	❑ 0 : Absent ❑ 1 : < 50% des émissions ❑ 2 : > 50% des émissions	I__I
Appréciation globale de la gravité	❑ 0 : Quiescente ❑ 1 : Activité légère ❑ 2 : Activité modérée ❑ 3 : Maladie sévère	I__I
Evaluation de la sévérité des lésions endoscopiques (lors d'une rectosigmoïdoscopie)	❑ 0 : Normal ou maladie inactive ❑ 1 : Anomalies légères (érythème, diminution de la trame vasculaire, légère fragilité) ❑ 2 : Anomalies modérées (érythème franc, disparition de la trame vasculaire, fragilité, érosions) ❑ 3 : Anomalies sévères (saignement spontané, ulcérations)	I__I
	Total Score	**I__I**

Score <2 : maladie inactive
Score compris entre 3 et 5:activité faible
Score entre 6 et 10 :activité modérée
Score >11 : activité sévère
Rutgeerts P, et al. N Engl J Med. 2005; 353: 2462-7.

Annexe 2 : Score de Truelove et Witts

Groupe d'Etude Thérapeutique des Affections Inflammatoires du Tube Digestif

Date [_ _ / _ _ / _ _] Initiales patient |___|___|/|___|___|

Recueil du score de Truelove et Witts
(À remplir par le médecin lors de la consultation)

Sévérité de la poussée	Sévère	Modérée	Légère
Nombre d'évacuations sanglantes /jour	≤ 4	entre 4 et 5	≥ 6
Température vespérale	>37,5 ℃ 4j/4 >37,8 ℃ 2 j/4	fièvre légère et inconstante	absence de fièvre
Fréquence cardiaque	≥ 90 /mn	entre 60 et 90 /mn	absence de tachycardie
Taux d'hémoglobine	≤ 75% de la normale	> 75% de la normale	normale
Vitesse de sédimentation (mm à la première heure)	≥ 30 mm	entre 20 et 29 mm	< 20 mm
Total Score	I__I__I	I__I__I	I__I__I

Critère de Oxford modifiés : 2 critères + albuminémie > 34 g/L.

Truelove SC, Witts LJ : Cortisone in ulcerative colitis; Final report on a therapeutic trial. Br Med J 1955;2:1041-1048. Chapman RW, et al. Controlled trial of intravenous metronidazole as an adjunct to corticosteroids in severe ulcerative colitis. Gut 1986; 27: 1210-2.

Annexe 3 : Score de Lichtiger

SCORE DES POUSSEES SEVERES DE COLITE INFLAMMATOIRE

Score de Lichtiger (Truelove et Witts modifié). NEJM 1994

	Date :								
Nombre de selles par jour (en plus du nombre habituel)	0-2 3-4 5-6 7-9 10 et plus	0 1 2 3 4							
Selles nocturnes	Non Oui	0 1							
Saignement rectal (en % du nombre de selles)	Absent < 50% ≥ 50% 100%	0 1 2 3							
Incontinence fécale	Non Oui	0 1							
Douleurs abdominales	Aucune Lègères Moyennes Intenses	0 1 2 3							
Etat général	Parfait Très bon Bon Moyen Mauvais Très Mauvais	0 1 2 3 4 5							
Douleur abdominale provoquée	Aucune Légère et localisée Moyenne et diffuse Importante	0 1 2 3							
Nécessité d'un antidiarrhéique	Non Oui	0 1							
	TOTAL								
CRP									
Hb									
Albuminémie									

Annexe 4 : Score UCEIS

Groupe d'Etude Thérapeutique des Affections Inflammatoires du Tube Digestif

Date [_ _ / _ _ / _ _] Initiales patient |___|___|/|___|___|

ULCERATIVE COLITIS ENDOSCOPIC INDEX OF SEVERITY (UCEIS©)
(À remplir par le médecin lors de la coloscopie)

Trame vasculaire	❑ 0 normal	Trame vasculaire normale avec arborisation capillaire nettement visible	
	❑ 1 Disparition partielle	Disparition partielle de la trame vasculaire	I__I
	❑ 2 Disparition	Disparition complète de la trame vasculaire	
Saignement	❑ 0 : Aucun	Absence de sang visible	
	❑ 1 : muqueux	Traces de sang coagulé à la surface de la muqueuse, lavable lors de l'endoscopie	
	❑ 2 : Luminal, discret	Présence de sang frais en faible quantité dans la lumière	I__I
	❑ 3 : Luminal moderé ou sévère	Présence nette de sang frais dans la lumière OU suintement hémorragique de la muqueuse persistant après lavage	
Erosions & Ulcères (lésions les plus sévères)	❑ 0 : Aucune	Absence d'ulcération visible	
	❑ 1 : Erosions	Ulcérations planes (<5mm) à fond blanc ou jaune	
	❑ 2 : Ulcérations superficielles	Ulcérations planes (>5mm), recouvertes d'un enduit fibrineux	I__I
	❑ 3 : ulcérations profondes	Ulcérations creusantes, à bords surélevés	

Travis S, et al. Gut. 2012 April; 61(4): 535–542

REFERENCES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Gower-Rousseau C, Vasseur F, Fumery M, Savoye G, Salleron J, Dauchet L et al. Epidemiology of inflammatory bowel diseases: new insights from a French population-based registry (EPIMAD). Dig Liver Dis. 2013;45(2):89-94

2. Cosnes J, Gower–Rousseau C, Seksik P, Cortot A. Epidemiology and Natural History of Inflammatory Bowel Diseases. Gastroenterol 2011;140(6):1785-1794

3. Edward V Loftus Jr. Clinical epidemiology of inflammatory bowel disease: incidence, prevalence, and environmental influences. . Gastroenterol 2004;126(6):1504-1517

4. Manichanh C, Borruel N, Casellas F, Guarner F. The gut microbiota in IBD. Nat Rev Gastroenterol Hepatol.. 2012;9(10):599-608.

5. Aratari A, Papi C, Clemente V, Moretti A, Luchetti R, Koch M et al. Colectomy rate in acute severe ulcerative colitis in the infliximab era. Dig Liver Dis.. 2008;40(10):821-6.

6. Jess T, Rungoe C, Peyrin-Biroulet L. Risk of colorectal cancer in patients with ulcerative colitis: a meta-analysis of population-based cohort studies. Clin Gastroenterol Hepatol.. 2012;10(6):639-45.

7. Rogler G. Chronic ulcerative colitis and colorectal cancer. Cancer Lett. 2013

8. Timmer A, McDonald J, Tsoulis D, Macdonald J. Azathioprine and 6-mercaptopurine for maintenance of remission in ulcerative colitis. Cochrane Database Syst Rev.. 2012;9:10.

9. Chande N, MacDonald J, McDonald J. Methotrexate for induction of remission in ulcerative colitis. Cochrane Database Syst Rev.. 2007;

10. Rutgeerts P, Sandborn W, Feagan B, Reinisch W, Olson A, Johanns J et al. Infliximab for induction and maintenance therapy for ulcerative colitis. N Engl J Med.. 2005;353(23):2462-76.

11. Reinisch W, Sandborn W, Hommes D, D'Haens G, Hanauer S, Schreiber S et al. Adalimumab for induction of clinical remission in moderately to severely active ulcerative colitis: results of a randomised controlled trial. Gut.. 2011;60(6):780-7.

12. Sandborn W, van A, Reinisch W, Colombel J, D'Haens G, Wolf D et al. Adalimumab induces and maintains clinical remission in patients with moderate-to-severe ulcerative colitis. Gastroenterology.. 2012;142(2):257-65.

13. Laharie D, Bourreille A, Branche J, Allez M, Bouhnik Y, Filippi J et al. Ciclosporin versus infliximab in patients with severe ulcerative colitis refractory to intravenous steroids: a parallel, open-label randomised controlled trial. Lancet.. 2012;380(9857):1909-15.

14. Turner D, Seow C, Greenberg G, Griffiths A, Silverberg M, Steinhart A. A systematic prospective comparison of noninvasive disease activity indices in ulcerative colitis. Clin Gastroenterol Hepatol.. 2009;7(10):1081-8.

15. Hirai F, Matsui T, Aoyagi K, Inoue N, Hibi T, Oshitani N et al. Validity of activity indices in ulcerative colitis: comparison of clinical and endoscopic indices. Dig Endosc.. 2010;22(1):39-44.

16. Schoepfer A, Beglinger C, Straumann A, Safroneeva E, Romero Y, Armstrong D et al. Fecal calprotectin more accurately reflects endoscopic activity of ulcerative colitis than the Lichtiger Index, C-reactive protein, platelets, hemoglobin, and blood leukocytes. Inflamm Bowel Dis.. 2013;19(2):332-41.

17. Truelove SC, Witts LJ. Cortisone in Ulcerative Colitis. Br Med J. 1955;2(4947):1041-8.

18. Lichtiger S, Present D, Kornbluth A, Gelernt I, Bauer J, Galler G et al. Cyclosporine in severe ulcerative colitis refractory to steroid therapy. N Engl J Med.. 1994;330(26):1841-5.

19. Mendoza J, Abreu M. Biological markers in inflammatory bowel disease: practical consideration for clinicians. Gastroenterol Clin Biol.. 2009;3:S158-73.

20. Iskandar H, Ciorba M. Biomarkers in inflammatory bowel disease: current practices and recent advances. Transl Res.. 2012;159(4):313-25.

21. Solem C, Loftus E, Tremaine W, Harmsen W, Zinsmeister A, Sandborn W. Correlation of C-reactive protein with clinical, endoscopic, histologic, and radiographic activity in inflammatory bowel disease. Inflamm Bowel Dis.. 2005;11(8):707-12.

22. Zilberman L, Maharshak N, Arbel Y, Rogowski O, Rozenblat M, Shapira I et al. Correlated expression of high-sensitivity C-reactive protein in relation to disease activity in inflammatory bowel disease: lack of differences between Crohn's disease and ulcerative colitis. Digestion.. 2006;73(4):205-9.

23. Turner D, Mack D, Hyams J, LeLeiko N, Otley A, Markowitz J et al. C-reactive protein (CRP), erythrocyte sedimentation rate (ESR) or both? A systematic evaluation in pediatric ulcerative colitis. J Crohns Colitis.. 2011;5(5):423-9.

24. Henriksen M, Jahnsen J, Lygren I, Stray N, Sauar J, Vatn M et al. C-reactive protein: a predictive factor and marker of inflammation in inflammatory bowel disease. Results from a prospective population-based study. Gut.. 2008;57(11):1518-23.

25. Azad S, Sood N, Sood A. Biological and Histological Parameters as Predictors of Relapse in Ulcerative Colitis: A Prospective Study. Saudi J Gastroenterol. 2011;17(3):194-8.

26. Pepys M, Hirschfield G. C-reactive protein: a critical update. J Clin Invest.. 2003;111(12):1805-12.

27. Vermeire S, Assche G, Rutgeerts P. Role of biomarkers in the diagnosis of inflammatory bowel disease. Expert Opin Med Diagn.. 2007;1(4):481-8.

28. Travis S, Schnell D, Krzeski P, Abreu M, Altman D, Colombel J et al. Reliability and Initial Validation of the Ulcerative Colitis Endoscopic Index of Severity. Gastroenterology.. 2013;:S0016-5085.

29. Gay G. Les complications de la coloscopie. Acta endosc. 2000;30(3):195-203

30. Lüning T, Keemers-Gels M, Barendregt W, Tan A, Rosman C. Colonoscopic perforations: a review of 30,366 patients. Surg Endosc.. 2007;21(6):994-7.

31. Foell D, Wittkowski H, Vogl T, Roth J. S100 proteins expressed in phagocytes: a novel group of damage-associated molecular pattern molecules. J Leukoc Biol. 2007;81(1):28-37.

32. Pierce A, Legrand D, Mazurier J. Lactoferrin: a multifunctional protein. Med Sci (Paris).. 2009;25(4):361-9.

33. García-Montoya I, Cendón T, Arévalo-Gallegos S, Rascón-Cruz Q. Lactoferrin a multiple bioactive protein: an overview. Biochim Biophys Acta.. 2012;1820(3):226-36.

34. Orsi N. The antimicrobial activity of lactoferrin: current status and perspectives. Biometals.. 2004;17(3):189-96.

35. Gupta V, Bamezai R. Human pyruvate kinase M2: a multifunctional protein. Protein Sci.. 2010;19(11):2031-44.

36. Wirleitner B, Reider D, Ebner S, Böck G, Widner B, Jaeger M et al. Monocyte-derived dendritic cells release neopterin. J Leukoc Biol.. 2002;72(6):1148-53.

37. Fasano A. Zonulin and its regulation of intestinal barrier function: the biological door to inflammation, autoimmunity, and cancer. Physiol Rev.. 2011;91(1):151-75.

38. Tripathi A, Lammers K, Goldblum S, Shea-Donohue T, Netzel-Arnett S, Buzza M et al. Identification of human zonulin, a physiological modulator of tight junctions, as prehaptoglobin-2. Proc Natl Acad Sci U S A.. 2009;106(39):16799-804.

39. Costa F, Mumolo M, Bellini M, Romano M, Ceccarelli L, Arpe P et al. Role of faecal calprotectin as non-invasive marker of intestinal inflammation. Dig Liver Dis.. 2003;35(9):642-7.

40. Langhorst J, Elsenbruch S, Koelzer J, Rueffer A, Michalsen A, Dobos GJ. Noninvasive Markers in the Assessment of Intestinal Inflammation in Inflammatory Bowel Diseases: Performance of Fecal Lactoferrin, Calprotectin, and PMN-Elastase, CRP, and Clinical Indices. Am J Gastroenterol. 2007

41. van Rheenen PF, Van de Vijver E, Fidler V. Faecal calprotectin for screening of patients with suspected inflammatory bowel disease: diagnostic meta-analysis. BMJ. 2010;341(jul15 1):c3369.

42. Mindemark M, Larsson A. Ruling out IBD: estimation of the possible economic effects of pre-endoscopic screening with F-calprotectin. Clin Biochem.. 2012;45(7-8):552-5.

43. Chung-Faye G, Hayee B, Maestranzi S, Donaldson N, Forgacs I, Sherwood R. Fecal M2-pyruvate kinase (M2-PK): a novel marker of intestinal inflammation. Inflamm Bowel Dis. 2007;13(11):1374-8.

44. Jeffery J, Lewis SJ, Ayling RM. Fecal dimeric M2-pyruvate kinase (tumor M2-PK) in the differential diagnosis of functional and organic bowel disorders. Inflamm Bowel Dis. 2009;15(11):1630-4.

45. Vieira A, Fang C, Rolim E, Klug W, Steinwurz F, Rossini L et al. Inflammatory bowel disease activity assessed by fecal calprotectin and lactoferrin: correlation with laboratory parameters, clinical, endoscopic and histological indexes. BMC Research Notes. 2009;2(1):221.

46. Schoepfer AM, Beglinger C, Straumann A, Trummler M, Vavricka SR, Bruegger LE et al. Fecal calprotectin correlates more closely with the Simple Endoscopic Score for Crohn's disease (SES-CD) than CRP, blood leukocytes, and the CDAI. Am J Gastroenterol. 2010;105(1):162-9.

47. Schoepfer AM, Beglinger C, Straumann A, Trummler M, Renzulli P, Seibold F. Ulcerative colitis: correlation of the Rachmilewitz endoscopic activity index with fecal calprotectin, clinical activity, C-reactive protein, and blood leukocytes. Inflamm Bowel Dis. 2009;15(12):1851-8.

48. Czub E, Herzig K, Szaflarska-Popawska A, Kiehne K, Socha P, Woś H et al. Fecal pyruvate kinase: a potential new marker for intestinal inflammation in children with inflammatory bowel disease. Scand J Gastroenterol.. 2007;42(10):1147-50.

49. Niederwieser D, Fuchs D, Hausen A, Judmaier G, Reibnegger G, Wachter H et al. Neopterin as a new biochemical marker in the clinical assessment of ulcerative colitis. Immunobiology.. 1985;170(4):320-6.

50. Ciećko-Michalska I, Fedak D, Mach T. Neopterin in assessing the activity of inflammatory bowel diseases: ulcerative colitis and Crohn's disease. Przegl Lek.. 2010;67(12):1262-5.

51. Nancey S, Boschetti G, Moussata D, Cotte E, Peyras J, Cuerq C et al. Neopterin is a novel reliable fecal marker as accurate as calprotectin for predicting endoscopic disease activity in patients with inflammatory bowel diseases. Inflamm Bowel Dis.. 2013;19(5):1043-52.

52. Husain N, Tokoro K, Popov J, Naides S, Kwasny M, Buchman A. Neopterin concentration as an index of disease activity in Crohn's disease and ulcerative colitis. J Clin Gastroenterol.. 2013;47(3):246-51.

53. Gisbert JP, Bermejo F, Pérez-Calle JL, Taxonera C, Vera I, McNicholl AG et al. Fecal calprotectin and lactoferrin for the prediction of inflammatory bowel disease relapse. Inflamm Bowel Dis. 2009;15(8):1190-8.

54. Tibble J, Sigthorsson G, Bridger S, Fagerhol M, Bjarnason I. Surrogate markers of intestinal inflammation are predictive of relapse in patients with inflammatory bowel disease. Gastroenterology.. 2000;119(1):15-22.

55. García-Sánchez V, Iglesias-Flores E, González R, Gisbert JP, Gallardo-Valverde JM, González-Galilea Á et al. Does fecal calprotectin predict relapse in patients with Crohn's disease and ulcerative colitis? (1). Journal of Crohn's & colitis. 2010;4(2):144-52.

56. Costa F, Mumolo M, Ceccarelli L, Bellini M, Romano M, Sterpi C et al. Calprotectin is a stronger predictive marker of relapse in ulcerative colitis than in Crohn's disease. Gut.. 2005;54(3):364-8.

57. Mao R, Xiao Y, Gao X, Chen B, He Y, Yang L et al. Fecal calprotectin in predicting relapse of inflammatory bowel diseases: a meta-analysis of prospective studies. Inflamm Bowel Dis.. 2012;18(10):1894-9.

58. Ho G, Lee H, Brydon G, Ting T, Hare N, Drummond H et al. Fecal calprotectin predicts the clinical course of acute severe ulcerative colitis. Am J Gastroenterol.. 2009;104(3):673-8.

59. Hämäläinen A. Infliximab in pediatric inflammatory bowel disease rapidly decreases fecal calprotectin levels. World J Gastroenterol. 2011;17(47):5166-71.

60. Sipponen T, Savilahti E, Kärkkäinen P, Kolho K, Nuutinen H, Turunen U et al. Fecal calprotectin, lactoferrin, and endoscopic disease activity in monitoring anti-TNF-alpha therapy for Crohn's disease. Inflamm Bowel Dis.. 2008;14(10):1392-8.

61. De Vos, Dewit O, D'Haens G, Baert F, Fontaine F, Vermeire S et al. Fast and sharp decrease in calprotectin predicts remission by infliximab in anti-TNF naïve patients with ulcerative colitis. J Crohns Colitis.. 2012;6(5):557-62.

62. Molander P, af B, Mustonen H, Haapamäki J, Vauhkonen M, Kolho K et al. Fecal calprotectin concentration predicts outcome in inflammatory bowel disease after induction therapy with TNFα blocking agents. Inflamm Bowel Dis.. 2012;18(11):2011-7.

63. Laharie D, Mesli S, El H, Chabrun E, Chanteloup E, Capdepont M et al. Prediction of Crohn's disease relapse with faecal calprotectin in infliximab responders: a prospective study. Aliment Pharmacol Ther.. 2011;34(4):462-9.

64. De Vos M, Louis E, Jahnsen J, Vandervoort J, Noman M, Dewit O et al. Consecutive Fecal Calprotectin Measurements to Predict Relapse in Patients with Ulcerative Colitis Receiving Infliximab Maintenance Therapy. Inflamm Bowel Dis.. 2013;19(10):2111-7.

65. Schoepfer A, Trummler M, Seeholzer P, Seibold-Schmid B, Seibold F. Discriminating IBD from IBS: comparison of the test performance of fecal markers, blood leukocytes, CRP, and IBD antibodies. Inflamm Bowel Dis.. 2008;14(1):32-9.

66. Abraham B, Kane S. Fecal markers: calprotectin and lactoferrin. Gastroenterol Clin North Am.. 2012;41(2):483-95.

67. Langhorst J, Boone J. Fecal lactoferrin as a noninvasive biomarker in inflammatory bowel diseases. Drugs Today (Barc).. 2012;48(2):149-61.

AUTRES REFERENCES:

A) www.afssaps.sante.fr, Recommandations nationales ; Prévention et prise en charge des tuberculoses survenant sous anti-TNFalpha ; Juillet 2005

B) http://theses.ulaval.ca; Nadia Anceriz ; Le rôle des protéines S100 dans la migration des neutrophiles au site inflammatoire ; Doctorat en microbiologie-immunologie, 2008

C) www.neopterin.net

D) www.IMGT.org ; International ImmunoGeneTics Information System ; Résumé du chapitre 31 du livre *Immunologie* de JP Revillard avec la collaboration de l'Association des Enseignants d'Immunologie des Universités de Langue Française (ASSIM) ; 4ème édition ; DeBoeck Université ; 2001

E) www.snv.jussieu.fr ; René Lafont ; Méthodes physiques de séparation et d'analyse et méthodes de dosage des biomolécules.

RESUME

Introduction

La calprotectine (fCal) et la lactoferrine (fLact) fécales sont de bons marqueurs d'activité de la rectocolite hémorragique (RCH) et sont capables de prédire une rechute. D'autres marqueurs fécaux sont encore en cours d'évaluation [(M2PK, néoptérine (fNéo), zonuline (fZonu)]. Nous avons souhaité comparer leur performance à prédire la réponse à un traitement d'induction et d'entretien par infliximab (IFX) dans la RCH.

Matériels et méthodes

Trente et un patients (17 M / 14 F, âge moyen 40 ans) avec une RCH en poussée requérant l'introduction d'IFX ont été prospectivement inclus. La réponse clinique à l'induction était évaluée par une baisse d'au moins 3 points et d'au moins 30% du score de Mayo à S14. La réponse endoscopique a été évaluée chez 25 patients à S0 et S12, par l'UCEIS et le sous score de Mayo dont un chiffre de 0 ou 1 définissait la rémission endoscopique. La réponse clinique au traitement d'entretien était évaluée à S52: une intensification de dose d'IFX ou un changement de traitement définissait l'échec de l'IFX. Des prélèvements de selles étaient réalisés à S0, S2, S6 et S14 pour dosage de fCal, fLac, fM2PK, fNeo et fZon.

Résultats

A l'inclusion, les patients présentaient une RCH active (Score de Mayo partiel, score Mayo endoscopique et UCEIS moyens de 6,8, 2,8 et 8,4 points, respectivement). A S14, 19 patients (61%) étaient en réponse clinique, dont 8 (26%) en rémission. A S12, on comptait 13 réponses endoscopiques). À S52, 11/19 patients (58%) restaient en réponse clinique. Les concentrations médianes de fCal, fLact et fM2PK diminuaient significativement entre S0 et S14 chez les patients répondeurs, contrairement aux non répondeurs. Pour prédire la réponse clinique au traitement d'induction, la fCal, la fLact et la fM2PK à S2 étaient des marqueurs performants (AUC respectives à 0,82, 0,84 et 0,88) : des taux ≤ 800 µg/g pour la fCal, ≤ 20000 ng/g pour la fLact et ≤ 50 U/mL pour la fM2PK, prédisaient la réponse clinique à l'induction avec des sensibilités (Se) de 82%, 81% et 88%, et des spécificités (Sp) de 69%, 70% et 80%, respectivement. La lactoferrine était le meilleur marqueur à S2 pour prédire la rémission endoscopique à S12, avec une AUC à 0,80 : un seuil de 32891 ng/g prédisait la rémission endoscopique avec des Se et Sp identiques à 72%. Les trois marqueurs à S14 étaient performants pour la prédiction de la réponse clinique à S52 (AUC à 0,82, 0,86 et 0,75, respectivement) : des taux ≤ 146µg/g pour la fCal, ≤ 3457 ng/g pour la fLact, ≤

2,25 U/mL pour la fM2PK, prédisaient la réponse clinique à S52 avec des Se respectives de 90%, 100% et 88%, et des Sp de 72%, 80% et 70%. Les trois marqueurs étaient également bien corrélés aux scores de sévérité endoscopiques, et également bien corrélés entre eux. La fNéo et la fZonu étaient en revanche mal corrélés à la calprotectine et constituaient des outils médiocres pour prédire la réponse au traitement.

Conclusion

La fCal, la flact et la fM2PK peuvent prédire de façon fiable et précoce (dès S2) la réponse clinique et endoscopique à l'induction, et dès S14 la rémission clinique prolongée à un an sous traitement d'entretien par IFX au cours de la RCH. Le dosage régulier de ces marqueurs pourrait être utile pour distinguer précocement les patients répondeurs des patients à risque d'échec à l'IFX.

Mots clés

Maladies inflammatoires chroniques intestinales, Recto colite hémorragique, Infliximab, Calprotectine fécale, Lactoferrine fécale, M2 Pyruvate kinase fécale, Néopterine fécale, Zonuline fécale.

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des Maîtres de cette Faculté, de mes chers condisciples et devant l'effigie d'Hippocrate,

Je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au dessus de mon travail, je ne participerai à aucun partage clandestin d'honoraires.

Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qu'il s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni favoriser le crime.

Je ne permettrai pas que des considérations de religion, de nation, de parti ou de classe sociale, viennent s'interposer entre mon devoir et mon patient.

Je garderai le respect absolu de la vie humaine.

Même sous l'emprise de la menace, je n'admettrai pas de faire usage de mes connaissances médicales contre les lois de l'humanité.

Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leur père.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses, que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

Etude comparative de la performance de marqueurs fécaux pour la prédiction de la réponse au traitement par infliximab dans la recto colite hémorragique

Résumé

La calprotectine (fCal) et la lactoferrine (fLact) fécales sont de bons marqueurs d'activité de la rectocolite hémorragique (RCH) et sont capables de prédire une rechute. D'autres marqueurs fécaux sont encore en cours d'évaluation [(M2PK, néoptérine (fNéo), zonuline (fZonu)]. Nous avons souhaité comparer leur performance à prédire la réponse à un traitement d'induction et d'entretien par infliximab (IFX) dans la RCH.

Trente et un patients (17 M / 14 F, âge moyen 40 ans) avec une RCH en poussée requérant l'introduction d'IFX ont été prospectivement inclus. La réponse clinique à l'induction était évaluée par une baisse d'au moins 3 points et d'au moins 30% du score de Mayo à S14. La réponse endoscopique a été évaluée chez 25 patients à S0 et S12, par l'UCEIS et le sous score de Mayo dont un chiffre de 0 ou 1 définissait la rémission endoscopique. La réponse clinique au traitement d'entretien était évaluée à S52: une intensification de dose d'IFX ou un changement de traitement définissait l'échec de l'IFX. Des prélèvements de selles étaient réalisés à S0, S2, S6 et S14 pour dosage de fCal, fLac, fM2PK, fNeo et fZon.

A l'inclusion, les patients présentaient une RCH active (Score de Mayo partiel, score Mayo endoscopique et UCEIS moyens de 6,8, 2,8 et 8,4 points, respectivement). A S14, 19 patients (61%) étaient en réponse clinique, dont 8 (26%) en rémission. A S12, on comptait 13 réponses endoscopiques). À S52, 11/19 patients (58%) restaient en réponse clinique. Les concentrations médianes de fCal, fLact et fM2PK diminuaient significativement entre S0 et S14 chez les patients répondeurs, contrairement aux non répondeurs. Pour prédire la réponse clinique au traitement d'induction, la fCal, la fLact et la fM2PK à S2 étaient des marqueurs performants (AUC respectives à 0,82, 0,84 et 0,88) : des taux ≤ 800 µg/g pour la fCal, ≤ 20000 ng/g pour la fLact et ≤ 50 U/mL pour la fM2PK, prédisaient la réponse clinique à l'induction avec des sensibilités (Se) de 82%, 81% et 88%, et des spécificités (Sp) de 69%, 70% et 80%, respectivement. La lactoferrine était le meilleur marqueur à S2 pour prédire la rémission endoscopique à S12, avec une AUC à 0,80 : un seuil de 32891 ng/g prédisait la rémission endoscopique avec des Se et Sp identiques à 72%. Les trois marqueurs à S14 étaient performants pour la prédiction de la réponse clinique à S52 (AUC à 0,82, 0,86 et 0,75, respectivement) : des taux ≤ 146µg/g pour la fCal, ≤ 3457 ng/g pour la fLact, ≤ 2,25 U/mL pour la fM2PK, prédisaient la réponse clinique à S52 avec des Se respectives de 90%, 100% et 88%, et des Sp de 72%, 80% et 70%. Les trois marqueurs étaient bien corrélés aux scores de sévérité endoscopiques, et également bien corrélés entre eux. La fNéo et la fZonu étaient en revanche mal corrélés à la calprotectine et constituaient des outils médiocres pour prédire la réponse au traitement.

La fCal, la flact et la fM2PK peuvent prédire de façon fiable et précoce (dès S2) la réponse clinique et endoscopique à l'induction, et dès S14 la rémission clinique prolongée à un an sous traitement d'entretien par IFX au cours de la RCH. Le dosage régulier de ces marqueurs pourrait être utile pour distinguer précocement les patients répondeurs des patients à risque d'échec à l'IFX.