



**HAL**  
open science

# Polyarthrite rhumatoïde et facteur rhumatoïde : comparaison de méthodes de dosage immunologiques

Luca Ishac

► **To cite this version:**

Luca Ishac. Polyarthrite rhumatoïde et facteur rhumatoïde : comparaison de méthodes de dosage immunologiques. Médecine humaine et pathologie. 2020. dumas-03219712

**HAL Id: dumas-03219712**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03219712v1>**

Submitted on 6 May 2021

**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.

UNIVERSITÉ de CAEN NORMANDIE  
-----  
**UFR SANTÉ**  
**FACULTÉ de MÉDECINE**

Année 2019/2020

**THÈSE POUR L'OBTENTION**  
**DU GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE**

Présentée et soutenue publiquement le : 18 Décembre 2020

par

M. Luca ISHAC

Né le 27 Mai 1991 à Brest (*département 29*)

**TITRE DE LA THÈSE :**

**Polyarthrite rhumatoïde et facteur rhumatoïde : comparaison de méthodes  
de dosage immunologiques**

**Président : Monsieur le Professeur Christian MARCELLI**

**Membre : Madame le Docteur Elisabeth COMBY**

**Directeur de thèse : Madame le Professeur Brigitte LE MAUFF**

**Année Universitaire 2019/2020****Doyen**

Professeur Emmanuel TOUZÉ

**Assesseurs**

Professeur Paul MILLIEZ (pédagogie)

Professeur Guy LAUNOY (recherche)

Professeur Sonia DOLLFUS & Professeur Evelyne EMERY (3<sup>ème</sup> cycle)**Directrice administrative**

Madame Sarah CHEMTOB

**PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS**

|     |                              |   |
|-----|------------------------------|---|
| M.  | <b>AGOSTINI Denis</b>        | Biophysique et médecine nucléaire         |
| M.  | <b>AIDE Nicolas</b>          | Biophysique et médecine nucléaire         |
| M.  | <b>ALLOUCHE Stéphane</b>     | Biochimie et biologie moléculaire         |
| M.  | <b>ALVES Arnaud</b>          | Chirurgie digestive                       |
| M.  | <b>AOUBA Achille</b>         | Médecine interne                          |
| M.  | <b>BABIN Emmanuel</b>        | Oto-Rhino-Laryngologie                    |
| M.  | <b>BÉNATEAU Hervé</b>        | Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie |
| M.  | <b>BENOIST Guillaume</b>     | Gynécologie - Obstétrique                 |
| M.  | <b>BERGER Ludovic</b>        | Chirurgie vasculaire                      |
| M.  | <b>BERGOT Emmanuel</b>       | Pneumologie                               |
| M.  | <b>BIBEAU Frédéric</b>       | Anatomie et cytologie pathologique        |
| Mme | <b>BRAZO Perrine</b>         | Psychiatrie d'adultes                     |
| M.  | <b>BROUARD Jacques</b>       | Pédiatrie                                 |
| M.  | <b>BUSTANY Pierre</b>        | Pharmacologie                             |
| Mme | <b>CHAPON Françoise</b>      | Histologie, Embryologie                   |
| Mme | <b>CLIN-GODARD Bénédicte</b> | Médecine et santé au travail              |
| M.  | <b>DAMAJ Ghandi Laurent</b>  | Hématologie                               |
| M.  | <b>DAO Manh Thông</b>        | Hépatologie-Gastro-Entérologie            |

|                                   |   |
|-----------------------------------|---|
| <b>M. DEFER Gilles</b>            | Neurologie  |
| <b>M. DELAMILLIEURE Pascal</b>    | Psychiatrie d'adultes                             |
| <b>M. DENISE Pierre</b>           | Physiologie                                       |
| <b>Mme DOLLFUS Sonia</b>          | Psychiatrie d'adultes                             |
| <b>M. DREYFUS Michel</b>          | Gynécologie - Obstétrique                         |
| <b>M. DU CHEYRON Damien</b>       | Réanimation médicale                              |
| <b>Mme ÉMERY Evelyne</b>          | Neurochirurgie                                    |
| <b>M. ESMAIL-BEYGUI Farzin</b>    | Cardiologie                                       |
| <b>Mme FAUVET Raffaèle</b>        | Gynécologie – Obstétrique                         |
| <b>M. FISCHER Marc-Olivier</b>    | Anesthésiologie et réanimation                    |
| <b>M. GÉRARD Jean-Louis</b>       | Anesthésiologie et réanimation                    |
| <b>M. GUILLOIS Bernard</b>        | Pédiatrie   |
| <b>Mme GUITTET-BAUD Lydia</b>     | Epidémiologie, économie de la santé et prévention |
| <b>M. HABRAND Jean-Louis</b>      | Cancérologie option<br>Radiothérapie              |
| <b>M. HAMON Martial</b>           | Cardiologie                                       |
| <b>Mme HAMON Michèle</b>          | Radiologie et imagerie médicale                   |
| <b>M. HANOUCZ Jean-Luc</b>        | Anesthésie et réa. médecine péri-opératoire       |
| <b>M. HULET Christophe</b>        | Chirurgie orthopédique et traumatologique         |
| <b>M. ICARD Philippe</b>          | Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire         |
| <b>M. JOIN-LAMBERT Olivier</b>    | Bactériologie - Virologie                         |
| <b>Mme JOLY-LOBBEDEZ Florence</b> | Cancérologie                                      |
| <b>M. JOUBERT Michael</b>         | Endocrinologie                                    |
| <b>M. LAUNOY Guy</b>              | Epidémiologie, économie de la santé et prévention |
| <b>M. LE HELLO Simon</b>          | Bactériologie-Virologie                           |
| <b>Mme LE MAUFF Brigitte</b>      | Immunologie                                       |
| <b>M. LOBBEDEZ Thierry</b>        | Néphrologie                                       |
| <b>M. LUBRANO Jean</b>            | Chirurgie viscérale et digestive                  |
| <b>M. MAHE Marc-André</b>         | Cancérologie                                      |

|            |                              |  |
|------------|------------------------------|--|
| <b>M.</b>  | <b>MANRIQUE Alain</b>        | Biophysique et médecine<br>nucléaire                         |
| <b>M.</b>  | <b>MARCÉLLI Christian</b>    | Rhumatologie   |
| <b>M.</b>  | <b>MARTINAUD Olivier</b>     | Neurologie   |
| <b>M.</b>  | <b>MAUREL Jean</b>           | Chirurgie générale   |
| <b>M.</b>  | <b>MILLIEZ Paul</b>          | Cardiologie  |
| <b>M.</b>  | <b>MOREAU Sylvain</b>        | Anatomie/Oto-Rhino-<br>Laryngologie                          |
| <b>M.</b>  | <b>MOUTEL Grégoire</b>       | Médecine légale et droit de la<br>santé                      |
| <b>M.</b>  | <b>NORMAND Hervé</b>         | Physiologie  |
| <b>M.</b>  | <b>PARIENTI Jean-Jacques</b> | Biostatistiques, info. médicale et tech. de<br>communication |
| <b>M.</b>  | <b>PELAGE Jean-Pierre</b>    | Radiologie et imagerie<br>médicale                           |
| <b>Mme</b> | <b>PIQUET Marie-Astrid</b>   | Nutrition  |
| <b>M.</b>  | <b>QUINTYN Jean-Claude</b>   | Ophtalmologie  |
| <b>Mme</b> | <b>RAT Anne-Christine</b>    | Rhumatologie   |
| <b>M.</b>  | <b>RAVASSE Philippe</b>      | Chirurgie infantile  |
| <b>M.</b>  | <b>REPESSE Yohann</b>        | Hématologie  |
| <b>M.</b>  | <b>REZNIK Yves</b>           | Endocrinologie   |
| <b>M.</b>  | <b>ROD Julien</b>            | Chirurgie infantile  |
| <b>M.</b>  | <b>ROUPIE Eric</b>           | Médecine d'urgence   |
| <b>Mme</b> | <b>THARIAT Juliette</b>      | Radiothérapie  |
| <b>M.</b>  | <b>TILLOU Xavier</b>         | Urologie   |
| <b>M.</b>  | <b>TOUZÉ Emmanuel</b>        | Neurologie   |
| <b>M.</b>  | <b>TROUSSARD Xavier</b>      | Hématologie  |
| <b>Mme</b> | <b>VABRET Astrid</b>         | Bactériologie - Virologie                                    |
| <b>M.</b>  | <b>VERDON Renaud</b>         | Maladies infectieuses  |
| <b>Mme</b> | <b>VERNEUIL Laurence</b>     | Dermatologie   |
| <b>M.</b>  | <b>VIVIEN Denis</b>          | Biologie cellulaire  |

## **PROFESSEURS ASSOCIÉS DES UNIVERSITÉS A MI-TEMPS**

|                                      |                     |
|--------------------------------------|---------------------|
| <b>M. DE LA SAYETTE Vincent</b>      | Neurologie          |
| <b>Mme DOMPMARTIN-BLANCHÈRE Anne</b> | Dermatologie        |
| <b>M. GUILLAUME Cyril</b>            | Médecine palliative |
| <b>M. LE BAS François</b>            | Médecine Générale   |
| <b>M. SABATIER Rémi</b>              | Cardiologie         |

## **PRCE**

|                          |         |
|--------------------------|---------|
| <b>Mme LELEU Solveig</b> | Anglais |
|--------------------------|---------|

## **PROFESSEURS EMERITES**

|                                 |  |
|---------------------------------|--|
| <b>M. HURALT de LIGNY Bruno</b> | Néphrologie  |
| <b>Mme KOTTLER Marie-Laure</b>  | Biochimie et biologie moléculaire                    |
| <b>M. LE COUTOUR Xavier</b>     | Epidémiologie, économie de<br>la santé et prévention |
| <b>M. LEPORRIER Michel</b>      | Hématologie  |
| <b>M. VIADER Fausto</b>         | Neurologie   |

**Année Universitaire 2019/2020****Doyen**

Professeur Emmanuel TOUZÉ

**Assesseurs**

Professeur Paul MILLIEZ (pédagogie)

Professeur Guy LAUNOY (recherche)

Professeur Sonia DOLLFUS & Professeur Evelyne EMERY (3<sup>ème</sup> cycle)**Directrice administrative**

Madame Sarah CHEMTOB

**MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS  
HOSPITALIERS**

|                              |  |
|------------------------------|--|
| <b>M. ALEXANDRE Joachim</b>  | Pharmacologie clinique                                       |
| <b>Mme BENHAÏM Annie</b>     | Biologie cellulaire  |
| <b>M. BESNARD Stéphane</b>   | Physiologie  |
| <b>Mme BONHOMME Julie</b>    | Parasitologie et mycologie                                   |
| <b>M. BOUVIER Nicolas</b>    | Néphrologie  |
| <b>M. COULBAULT Laurent</b>  | Biochimie et Biologie<br>moléculaire                         |
| <b>M. CREVEUIL Christian</b> | Biostatistiques, info. médicale et tech. de<br>communication |
| <b>M. DE BOYSSON Hubert</b>  | Médecine interne   |
| <b>Mme DINA Julia</b>        | Bactériologie - Virologie                                    |
| <b>Mme DUPONT Claire</b>     | Pédiatrie  |
| <b>M. ÉTARD Olivier</b>      | Physiologie  |
| <b>M. GABEREL Thomas</b>     | Neurochirurgie   |
| <b>M. GRUCHY Nicolas</b>     | Génétique  |
| <b>M. GUÉNOLÉ Fabian</b>     | Pédopsychiatrie  |
| <b>M. HITIER Martin</b>      | Anatomie - ORL Chirurgie<br>Cervico-faciale                  |
| <b>M. ISNARD Christophe</b>  | Bactériologie Virologie                                      |
| <b>M. JUSTET Aurélien</b>    | Pneumologie  |

|                                       |  |
|---------------------------------------|--|
| <b>Mme KRIEGER Sophie</b>             | Pharmacie                                    |
| <b>M. LEGALLOIS Damien</b>            | Cardiologie                                  |
| <b>Mme LELONG-BOULOUARD Véronique</b> | Pharmacologie fondamentale                   |
| <b>Mme LEVALLET Guénaëlle</b>         | Cytologie et Histologie                      |
| <b>M. MITTRE Hervé</b>                | Biologie cellulaire                          |
| <b>M. SESBOÛÉ Bruno</b>               | Physiologie                                  |
| <b>M. TOUTIRAIS Olivier</b>           | Immunologie                                  |
| <b>M. VEYSSIERE Alexis</b>            | Chirurgie maxillo-faciale et<br>stomatologie |

#### **MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIÉS DES UNIVERSITÉS A MI-TEMPS**

|                                   |                   |
|-----------------------------------|-------------------|
| <b>Mme ABBATE-LERAY Pascale</b>   | Médecine générale |
| <b>M. COUETTE Pierre-André</b>    | Médecine générale |
| <b>Mme NOEL DE JAEGHER Sophie</b> | Médecine générale |
| <b>M. PITHON Anni</b>             | Médecine générale |
| <b>M. SAINMONT Nicolas</b>        | Médecine générale |
| <b>Mme SCHONBRODT Laure</b>       | Médecine générale |

#### **MAITRES DE CONFERENCES EMERITES**

|                               |                            |
|-------------------------------|----------------------------|
| <b>Mme DEBRUYNE Danièle</b>   | Pharmacologie fondamentale |
| <b>Mme DERLON-BOREL Annie</b> | Hématologie                |
| <b>Mme LEPORRIER Nathalie</b> | Génétique                  |



# Remerciements

**A Monsieur le Professeur Christian MARCELLI de me faire l'honneur de présider mon jury de thèse. Vous m'avez formé à la rhumatologie durant mon cursus, je vous en suis reconnaissant.**

**A Madame le Professeur Brigitte LE MAUFF de m'avoir fait l'honneur d'encadrer ce travail. Votre disponibilité et vos conseils m'ont été d'une aide précieuse. Vous m'avez fait découvrir le « monde » de l'immunologie, je vous en remercie.**

**A Madame le Docteur Elisabeth COMBY de me faire l'honneur de juger ce travail.**

**Au service de rhumatologie de l'hôpital Bégin, de m'avoir fait découvrir cette très belle spécialité.**

**A l'ensemble des équipes médicales et paramédicales des services de rhumatologie du CHU de Caen, de Cherbourg, d'Avranches et de Saint-Lô ainsi que du service de médecine interne du CHU de Caen, de m'avoir encadré et transmis votre passion durant ces années d'internat.**

**A mes parents, pour votre soutien sans faille (dont j'ai pu abuser), vos précieux conseils, vos encouragements, qui m'ont permis de mener à bien tous mes projets. Je vous dois tant.**

**A ma sœur, Laïs, et mon beau-frère, Joris, pour tous ces instants de joie passés en votre compagnie. Puissent vos rêves se concrétiser.**

**A mon frère, Léopold, des continents nous séparent, mais tu es toujours dans mes pensées. J'espère que là où tu es, tu as trouvé ta voie.**

**A Arthur, Raphaël et Tim, les amis de toujours.**

**A tous mes amis de la fac, Adel, Arnaud, Jérôme, Quentin, pour ne citer qu'eux.**

**A Louis, sans qui cette aventure normande n'aurait peut-être jamais eu lieu.**

**A tous ceux qui ont fait le Grand Cherbourg et ceux qui l'ont rejoint, votre rencontre au début de l'internat fut le soleil de cet hiver 2017.**

**A tous mes co-internes de rhumatologie et notamment à Vincent, fidèle acolyte de stage, qui ont rendu ces années si agréables.**

**A Pauline, pour ton écoute attentive, ta patience, ton amour et tous ces magnifiques moments à tes côtés. Qu'il me tarde de traverser l'Atlantique pour profiter des plages antillaises avec toi.**

# Sommaire

|   |            |
|---|------------|
| <b>Liste des abréviations</b> .....   | <b>i</b>   |
| <b>Liste des Tableaux</b> .....   | <b>iii</b> |
| <b>Liste des Figures</b> .....  | <b>iv</b>  |
| <b>Introduction</b> .....   | <b>1</b>   |
| <b>PARTIE 1 : LA POLYARTHRITE RHUMATOÏDE, ETAT DES LIEUX</b> .....          | <b>2</b>   |
| <b>1. Description générale</b> .....  | <b>2</b>   |
| <b>2. Épidémiologie</b> .....   | <b>2</b>   |
| <b>3. Facteurs de risque</b> .....  | <b>3</b>   |
| 3.1. Génétique .....  | 3          |
| 3.2. Épigénétique .....   | 5          |
| 3.3. Environnementaux .....   | 5          |
| 3.3.1. Tabac et autres polluants inhalés .....                              | 5          |
| 3.3.2. Microbiote .....   | 6          |
| 3.4. Hormonaux.....   | 7          |
| <b>4. Physiopathologie de la polyarthrite rhumatoïde</b> .....              | <b>7</b>   |
| 4.1. PR pré-clinique .....  | 7          |
| 4.2. PR précoce vers un stade établi .....                                  | 8          |
| 4.2.1. Lésions cartilagineuses .....  | 10         |
| 4.2.2. Destruction osseuse .....  | 10         |
| <b>5. Clinique</b> .....  | <b>12</b>  |
| 5.1. Manifestations articulaires .....                                      | 12         |
| 5.2. Manifestations extra-articulaires.....                                 | 12         |
| <b>6. Diagnostic</b> .....  | <b>13</b>  |
| 6.1. Recommandations de la Société Française de Rhumatologie.....           | 14         |
| 6.2. Critères de classification ACR/EULAR.....                              | 14         |
| 6.2.1. Définition des items des critères de classification ACR/EULAR 2010.. | 16         |
| 6.2.1.1. Articulations atteintes .....                                      | 16         |

|   |           |
|---|-----------|
| 6.2.1.2. Sérologie .....  | 17        |
| 6.2.2. Performances des critères de classification ACR/EULAR 2010 ..... | 17        |
| <b>7. Paramètres biologiques : les auto-anticorps .....</b>             | <b>18</b> |
| 7.1. Facteur rhumatoïde .....   | 18        |
| 7.1.1. Historique.....  | 18        |
| 7.1.2. Intérêt du dosage .....  | 18        |
| 7.1.3. Méthodes de détection .....                                      | 20        |
| 7.1.3.1. Néphélométrie .....  | 20        |
| 7.1.3.2. ELISA .....  | 21        |
| 7.2. ACPA.....  | 22        |
| 7.2.1. Historique.....  | 22        |
| 7.2.2. Intérêt du dosage .....  | 23        |
| 7.2.3. Méthodes de détection .....                                      | 23        |
| 7.3. Anticorps anti-peptides carbamylés .....                           | 24        |
| <b>8. Prise en charge thérapeutique dans la PR.....</b>                 | <b>25</b> |
| 8.1. Objectif du traitement et organisation de la prise en charge ..... | 25        |
| 8.2. Traitements de fond : DMARD .....                                  | 26        |
| 8.2.1. csDMARD .....  | 27        |
| 8.2.2. bDMARD et tsDMARD.....   | 27        |
| <b>PARTIE 2 : COMPARAISON DES METHODES DE DOSAGE DU FACTEUR</b>         |           |
| <b>RHUMATOIDE .....</b>   | <b>30</b> |
| <b>1. Contexte – Objectif du travail .....</b>                          | <b>30</b> |
| <b>2. Matériels et méthodes .....</b>                                   | <b>32</b> |
| 2.1. Population étudiée.....  | 32        |
| 2.2. Méthodes de dosage de FR comparées .....                           | 35        |
| 2.2.1. ELISA « maison » .....   | 35        |
| 2.2.2. Techniques automatisées.....                                     | 36        |
| 2.2.2.1. Immunodosage par chimiluminescence.....                        | 36        |
| 2.2.2.2. Immunodosage par émission de fluorescence.....                 | 37        |
| 2.2.2.3. Néphélométrie.....   | 38        |
| 2.3. Autres éléments techniques .....                                   | 39        |
| 2.3.1. Expression des résultats.....                                    | 39        |

|   |           |
|---|-----------|
| 2.3.2. Valeur de référence .....  | 39        |
| 2.3.3. Interférences .....  | 40        |
| 2.4. Analyse des données .....  | 40        |
| 2.4.1. Analyse statistique .....  | 40        |
| 2.4.2. Calcul des performances diagnostiques .....  | 41        |
| 2.4.3. Construction des courbes ROC .....   | 41        |
| 2.4.4. Index Kappa ou concordance clinique .....  | 42        |
| <b>3. Résultats .....</b>   | <b>44</b> |
| 3.1. Caractéristiques de la cohorte .....   | 44        |
| 3.2. Corrélation entre les tests .....  | 45        |
| 3.3. Performances diagnostiques .....   | 46        |
| 3.3.1. Population des patients PR .....   | 47        |
| 3.3.2. Population des patients non PR .....   | 49        |
| 3.3.3. Récapitulatif des performances diagnostiques des tests .....                                     | 51        |
| 3.4. Courbes ROC .....  | 51        |
| 3.5. Analyse d'un sous-groupe de patients : dosage effectué dans le cadre d'un bilan diagnostique ..... | 52        |
| 3.6. Analyse des discordances .....   | 53        |
| <b>4. Discussion .....</b>  | <b>54</b> |
| 4.1. Interprétation des résultats .....   | 54        |
| 4.1.1. Hétérogénéité dans les mesures de FR entre les techniques .....                                  | 54        |
| 4.1.2. Analyse des performances diagnostiques des méthodes comparées ..                                 | 55        |
| 4.2. Comparaison avec les données de la littérature .....   | 56        |
| 4.3. Critères de classification ACR/EULAR 2010 versus critères diagnostiques                            | 57        |
| 4.4. Limites de l'étude .....   | 58        |
| <b>Conclusion .....</b>   | <b>59</b> |
| <b>Bibliographie .....</b>  | <b>60</b> |

# Liste des abréviations

Ac : Anticorps

ACG : Artérite à cellules géantes

ACPA : Anticorps anti-peptides citrullinés

ACR : American College Of Rheumatology

ADAMTS : A Disintegrin And Metalloproteinase with Thrombospondin Motifs

ADN : Acide désoxyribonucléique

APF : Anti-facteur périnucéaire

ARN : Acide ribonucléique

AUC : Aire sous la courbe

bDMARD : Biological Disease-Modifying Antirheumatic Drug

CarP : Peptides carbamylés

CCP : Peptides cycliques citrullinés

CD : Cluster de différenciation

CDAI : Clinical Disease Activity Index

csDMARD : Conventional Synthetic Disease-Modifying Antirheumatic Drug

CHU : Centre hospitalier universitaire

CMH : Complexe majeur d'histocompatibilité

CRP : Protéine C-réactive

DAS : Disease Activity Score

ELISA : Immunodosage avec réaction colorimétrique

EULAR : European League Against Rheumatism

EVA : Échelle visuelle analogique

Fc : Fragment constant

FLS : Synoviocyte fibroblastique

FR : Facteur rhumatoïde

GM-CSF : Facteur de stimulation des colonies de granulocytes et macrophages

HLA : Human Leukocyte Antigen

Ig : Immunoglobuline

IL : Interleukine

IPD : Articulations interphalangiennes distales

IPP : Articulations interphalangiennes proximales  
LED : Lupus érythémateux disséminé  
MCP : Articulations métacarpophalangiennes  
MCV : Mutated Citrullinated Vimentin  
MMP : Métalloprotéases matricielles  
MTP : Articulations métatarsophalangiennes  
NIBSC : National Institute for Biological Standard and Control  
OMS : Organisation Mondiale de Santé  
PAD : Peptidylarginine désiminase  
PAL : Phosphatase alcaline  
PAN : Périartérite noueuse  
PPR : Pseudo-polyarthrite rhizomélique  
PR : Polyarthrite rhumatoïde  
PNPP : Para-nitrophénylphosphate  
RANKL : Activateur du récepteur du ligand du facteur nucléaire kappa-B  
RIC : Rhumatisme inflammatoire chronique  
RLU : Unité Relative de Lumière  
ROC : Receiver Operating Characteristic  
SDAI : Simplified Disease Activity Index  
Se : Sensibilité  
SFR : Société Française de Rhumatologie  
Sp : Spécificité  
TNF : Facteur de nécrose tumorale  
tsDMARD : Targeted Synthetic Disease-Modifying Antirheumatic Drug  
UI : Unité Internationale  
VPP : Valeur prédictive positive

# Liste des Tableaux

|  |    |
|--|----|
| Tableau 1 - Principaux gènes de susceptibilité dans la PR (d'après McInnes et Schett (9)) .....  | 4  |
| Tableau 2 - Critères de classification ACR 1987 (d'après Arnett et al. (24)).....  | 15 |
| Tableau 3 - Critères de classification ACR/EULAR 2010 (d'après Hua et Combe (26)) .....  | 16 |
| Tableau 4 - Fréquence du FR dans différentes situations (d'après Ingegnoli et al(29)) .....  | 19 |
| Tableau 5 - Seuil de positivité des différents tests, selon les notices des fabricants   | 39 |
| Tableau 6 - Tableau de contingence pour le calcul des performances diagnostiques des tests .....   | 41 |
| Tableau 7 - Tableau de contingence pour le calcul de l'index kappa.....  | 42 |
| Tableau 8 - Interprétation du degré d'accord entre deux techniques selon l'index Kappa .....   | 43 |
| Tableau 9 - Corrélations deux à deux des différentes méthodes de dosage du FR .  | 45 |
| Tableau 10 - Concordances entre les tests selon le coefficient Kappa.....  | 45 |
| Tableau 11 - Sensibilités relatives deux à deux des différentes méthodes de dosage du FR.....  | 46 |
| Tableau 12 - Scores ACR/EULAR 2010 calculés à partir des valeurs de FR mesurées par les quatre tests dans la population de patients PR .....     | 48 |
| Tableau 13 - Scores ACR/EULAR 2010 calculés à partir des valeurs de FR mesurées par les quatre tests dans la population de patients non PR ..... | 50 |
| Tableau 14 - Performances diagnostiques des quatre méthodes de dosage du FR  | 51 |
| Tableau 15 - Répartition des résultats discordants pour une seule technique.....   | 53 |



# Liste des Figures

|  |    |
|--|----|
| Figure 1 - Physiopathologie de la PR (d'après Smolen et al. (20)) .....  | 11 |
| Figure 2 - Principe de la néphélémétrie (d'après univ.ency-education.com).....   | 20 |
| Figure 3 - Principe d'un immunodosage par ELISA (d'après cri-net.com) .....  | 21 |
| Figure 4 - Stratégie de prise en charge médicamenteuse de la PR (d'après Daien et al. (22)) .....  | 29 |
| Figure 5 - Diagramme de flux de la population de l'étude .....   | 34 |
| Figure 6 - Automate Bioflash (à partir de <a href="https://www.werfen.com/fr/fr/bio-flashr">https://www.werfen.com/fr/fr/bio-flashr</a> ) ....   | 36 |
| Figure 7 - Automate Phadia 250 (d'après <a href="https://www.thermofisher.com/phadia">https://www.thermofisher.com/phadia</a> ) ....   | 37 |
| Figure 8 - Néphélémètre <i>BNTMII</i> (d'après <a href="https://www.siemens-healthineers.com/fr/plasma-protein/systems/bn-ii-system">https://www.siemens-healthineers.com/fr/plasma-protein/systems/bn-ii-system</a> ) ..... | 38 |
| Figure 9 - Répartition des patients par classe d'âge .....   | 44 |
| Figure 10 - Courbes ROC définies pour chaque test .....  | 52 |

# Introduction

La polyarthrite rhumatoïde (PR) représente l'un des rhumatismes inflammatoires les plus fréquents dans le monde.

Il s'agit d'une maladie auto-immune, touchant en premier lieu les articulations mais devant être considérée comme une maladie systémique avec de nombreuses atteintes extra-articulaires telles que les nodules rhumatoïdes, des atteintes pulmonaires ou vasculaires ainsi que des comorbidités systémiques associées.

D'importantes avancées sur la prise en charge de la PR ont eu lieu au cours des dernières décennies, tant sur le plan diagnostique que thérapeutique, à l'origine d'une véritable transformation dans le pronostic de la maladie.

Un des enjeux majeurs réside dans le diagnostic précoce de la maladie afin d'initier un traitement efficace le plus rapidement possible dans le but de ralentir l'évolution naturelle de la maladie.

Les facteurs rhumatoïdes (FR) sont parmi les premiers biomarqueurs à avoir été identifiés chez les sujets atteints de PR et conservent aujourd'hui une place importante pour établir le diagnostic de la maladie.

Depuis leur première description par Waaler et Rose, de nombreuses méthodes de détection du FR ont été développées et commercialisées.

Dans ce contexte, il nous est paru intéressant de comparer différentes techniques de dosage immunologiques du FR et leur apport dans le diagnostic de la PR.

Dans la première partie de ce travail, nous nous attacherons à établir un état des lieux de la PR et notamment à définir la place des biomarqueurs dans le diagnostic de la maladie.

Dans la deuxième partie, nous présenterons les résultats de notre étude dont le but est de comparer différentes techniques de dosages du FR dont une technique par immunodosage avec réaction colorimétrique (ELISA) dite « maison » et d'évaluer si les différences observées ont un impact sur la classification de la PR telle que définie par les critères ACR/EULAR 2010.

# **PARTIE 1 : LA POLYARTHRITE RHUMATOÏDE, ETAT DES LIEUX**

## **1. Description générale**

La première description la plus communément admise de ce que l'on nomme aujourd'hui la polyarthrite rhumatoïde nous vient du chirurgien français Augustin Landré-Beauvais qui décrivit en 1800 une entité nouvelle sous le nom de « goutte asthénique primitive », pouvant toucher plusieurs articulations et être à l'origine d'une destruction cartilagineuse.

Il fallut ensuite attendre 1859 pour que Sir Alfred Baring Garrod introduise le terme de polyarthrite rhumatoïde (« rheumatoid arthritis ») pour la première fois dans la littérature (1).

De nos jours, la PR est l'un des rhumatismes inflammatoires chroniques les plus fréquents dans le monde.

Il s'agit d'une maladie auto-immune systémique, touchant en premier lieu les articulations, particulièrement les petites articulations distales, le plus souvent de manière symétrique.

Outre l'atteinte articulaire, la PR se caractérise par des manifestations extra-articulaires pouvant toucher jusqu'à 40% des sujets atteints. Parmi les plus communes, on retrouve les nodules rhumatoïdes, des atteintes pulmonaires, vasculaires mais également des affections du système cardiovasculaire ou encore des manifestations oculaires (2).

## **2. Épidémiologie**

La prévalence de la PR est estimée entre 0,5% et 1% dans les pays industrialisés.

Il existe toutefois d'importantes variations en fonction des zones géographiques, avec l'existence d'un gradient Nord-Sud et une prévalence plus faible dans les pays industrialisés (3,4).

La maladie atteint deux à trois fois plus les femmes que les hommes et sa prévalence augmente avec l'âge, le pic d'incidence se situant au cours de la sixième décennie (5).

### **3. Facteurs de risque**

#### **3.1. Génétique**

Il existe une prédisposition génétique dans le développement de la PR comme en atteste l'observation d'une agrégation familiale de la maladie et l'étude de concordance chez les jumeaux monozygotes et dizygotes. Ainsi, l'héritabilité de la PR est estimée à environ 50% chez les PR séropositives pour le facteur rhumatoïde (FR) et les anticorps anti-peptides citrullinés (ACPA) et environ 20% chez les PR séronégatives (6).

Les techniques actuelles d'exploration du génome ont permis d'identifier de nombreux gènes de susceptibilité de la PR. Au total, plus d'une centaine de loci associés au risque de PR ont été mis en évidence, la plupart impliquant des éléments de la réponse immunitaire (7).

Le lien entre le complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) ou Human Leukocyte Antigen (HLA) et la PR est établi depuis les années 1980. Plusieurs études ont identifié de multiples allèles associés au risque de PR au niveau du gène HLA-DRB1 codant pour une séquence homologue d'acides aminés conduisant à l'hypothèse de « l'épitope partagé » ou shared epitope (SE). L'hypothèse de l'épitope partagé suppose une implication directe des molécules HLA-DR dans la physiopathologie de la PR, attribuant l'association HLA-DR et PR à certains allèles de susceptibilité, dont la particularité est de coder pour une séquence d'acides aminés communes dans la 3ème région hypervariable du premier domaine de la chaîne beta HLA-DR. Le rôle exact de l'épitope partagé n'a pas été clairement établi mais il pourrait participer à la présentation de peptides citrullinés par les cellules présentatrices d'antigènes. L'épitope partagé est associé au développement des ACPA et à une sévérité accrue de la maladie avec notamment des manifestations extra-articulaires et un risque de progression structurale (8).

Malgré un lien certain, les allèles de susceptibilité HLA ne sont ni indispensables, ni suffisants au développement de la PR. Plusieurs autres gènes non-HLA associés à un risque de PR ont été mis en évidence. Ainsi, le nombre total de gènes non-HLA associés à un risque de PR s'élevait à 106 pour la PR ACPA+ en 2017 (7). Les PR-ACPA+ et PR-ACPA- présentent des profils de susceptibilité génétique distincts.

**Table 1. Candidate Genes with Single-Nucleotide Polymorphisms (SNPs) Linked to Rheumatoid Arthritis and Their Potential Function in Pathogenesis.\***

| Candidate Gene and Pathway | SNP Locus | Function Relevant to Pathogenesis   |
|----------------------------|-----------|---|
| <b>T-cell activation</b>   |           |   |
| <i>HLA-DRB1</i> †          | 6p21      | HLA DRB1 allele (also known as the shared epitope) involved in MHC molecule-based antigen presentation and responsible for self-peptide selection and T-cell repertoire; first discovered and still by far the strongest genetic link to rheumatoid arthritis |
| <i>PTPN22</i>              | 1p13.2    | Lymphocyte-specific nonreceptor tyrosine phosphatase involved in regulation of activation threshold of lymphocytes; second genetic link described in rheumatoid arthritis   |
| <i>AFF3</i>                | 2q11.2    | Transcription factor for lymphoid development   |
| <i>CD28</i>                | 2q33.2    | Costimulatory molecule for T-cell activation  |
| <i>CD40</i>                | 20q13.12  | Costimulatory molecule that enhances interactions between T and B cells and increases auto-antibody production  |
| <i>CTLA4</i>               | 2q33.2    | Costimulation suppressor that regulates interactions between T cells and antigen-presenting cells   |
| <i>IL2RA</i>               | 10p15.1   | High-affinity receptor for interleukin-2 on lymphocyte subsets  |
| <i>IL2</i>                 | 4q27      | Cytokine that regulates activation of T cells, particularly regulatory T cells  |
| <i>IL-21</i>               | 4q27      | Cytokine that regulates differentiation of T cells, particularly Th17, and activation of B cells  |
| <i>PRKCQ</i>               | 10p15.1   | Member of the protein kinase C family that regulates T-cell and macrophage activation   |
| <i>STAT4</i>               | 2q32.3    | Transducer of cytokine signals that regulate proliferation, survival, and differentiation of lymphocytes  |
| <i>TAGAP</i>               | 6q25.3    | Rho-GTPase enzyme involved in T-cell activation   |
| <b>NF-κB pathway</b>       |           |   |
| <i>REL</i>                 | 2p16.1    | Proto-oncogene member of the NF-κB family that regulates leukocyte activation and survival  |
| <i>TNFAIP3</i>             | 6q23.3    | Signaling protein and negative regulator of TNF-α-induced NF-κB activation  |
| <i>TRAF1</i>               | 9q33.1    | Regulator of TNF-α-receptor superfamily signaling (e.g., to NF-κB and JNK)  |
| <b>Other pathways</b>      |           |   |
| <i>BLK</i>                 | 8p23.1    | B-lymphoid tyrosine kinase involved in B-cell receptor signaling and B-cell development   |
| <i>CCL21</i>               | 9q13.3    | Chemokine implicated in germinal-center formation   |
| <i>FCGR2A</i>              | 1q23.2    | Low-affinity IgG Fc receptor that regulates macrophage and neutrophil activation and immune-complex clearance   |
| <i>PADI4</i>               | 1p36.2    | Enzyme that converts arginine to citrulline, creating autoantigens in rheumatoid arthritis  |
| <i>PRDM1</i>               | 6q21      | Protein that acts as a repressor of β-interferon gene expression  |
| <i>TNFRSF14</i>            | 1p36.32   | TNF-α-receptor superfamily member with proinflammatory activity   |

*Tableau 1 - Principaux gènes de susceptibilité dans la PR (d'après McInnes et Schett (9))*

## **3.2. Épigenétique**

L'épigénétique correspond à l'étude de mécanismes moléculaires qui modulent l'expression du patrimoine génétique en fonction du contexte, notamment environnemental. Plusieurs mécanismes épigénétiques ont été identifiés dans la physiopathologie de la PR, notamment la méthylation de l'ADN (souvent dans les régions promotrices), la méthylation ou l'acétylation des histones et l'expression de micro-ARNs. Les synoviocytes de patients atteints de PR, par rapport à ceux de sujets sains, se caractérisent principalement par une méthylation différente (hypo ou hyperméthylation) de gènes codant pour l'adhésion cellulaire, la régulation de la matrice synoviale, certaines fonctions du système immunitaire et les voies de signalisation. Plusieurs microARNs impliqués dans la physiopathologie de la PR ont aussi été rapportés, agissant notamment sur le cycle cellulaire et l'expression de chémokines ou cytokines (10).

## **3.3. Environnementaux**

### **3.3.1. Tabac et autres polluants inhalés**

L'exposition active à la fumée de cigarette constitue le risque environnemental le plus important associé à la PR. L'importance et la durée de l'exposition augmentent le risque, et, plus intéressant, ce risque ne diminue qu'après 10 ans d'arrêt suggérant, plus qu'une toxicité, un désordre immunologique persistant (11).

Toutefois, les mécanismes par lesquels le tabagisme est associé au risque de PR sont multiples et ne sont pas encore tous connus.

Les différents constituants toxiques de la cigarette (arsenic, formaldéhyde, benzène, naphthalène, ...) peuvent constituer une source importante de radicaux libres, capables d'induire un stress oxydatif chez l'individu. De plus, la cigarette module à long terme les réponses immunitaires innée et acquise. Enfin, la cigarette pourrait provoquer une réaction inflammatoire locale et favoriser l'expression des peptidylarginines désiminases (PAD), elles-mêmes capable d'augmenter la citrullination des protéines.

L'hypercitrullination locale pourrait participer à la rupture de tolérance immunitaire. Il en résulterait la production d'ACPA chez des sujets génétiquement prédisposés (10,12).

D'autres polluants inhalés semblent également favoriser le développement de la maladie. Il a été ainsi prouvé qu'une exposition professionnelle aux poussières de silice augmente le risque de PR. Une étude a notamment démontré l'effet synergique de l'exposition à la silice et au tabac dans le développement de la PR ACPA+ (13).

### 3.3.2. Microbiote

Le rôle du microbiote dans le développement de la PR a également fait l'objet de plusieurs études. Les bactéries jouent un rôle d'adjuvant qui soutient les phénomènes dysimmunitaires, soit directement (paroi des bactéries ou lipopolysaccharides) ou indirectement en modifiant l'environnement muqueux immunorégulateur.

Des données provenant de modèles animaux suggèrent le rôle du microbiome intestinal dans le développement de la PR (14).

Chez l'homme, l'inflammation de la muqueuse orale, particulièrement la parodontite, est associée à un risque accru de développer une PR. Une des hypothèses proposées est que *Porphyromonas gingivalis* (une bactérie fréquemment retrouvée dans la parodontite) entraîne une citrullination aberrante et provoque une rupture de tolérance locale aux peptides citrullinés via l'expression endogène de PADI4, à l'origine de la production d'ACPA (15). Une autre étude a identifié *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* comme responsable d'une hypercitrullination par le biais d'une toxine, la leukotoxin A, via les polynucléaires neutrophiles. Cette bactérie a été détectée au sein du microbiote de la sphère orale des patients atteints de PR et pourrait agir comme un élément déclencheur de la PR (16).

Enfin, une étude chinoise portant sur plus de 100 patients atteints de PR (dont une majorité de patients naïfs de traitement) et de sujets témoins a confirmé l'existence d'une dysbiose orale et intestinale au cours de la PR, caractérisée par une réduction de la diversité des espèces bactériennes (17).

Toutefois, les mécanismes exacts qui sous-tendent ces observations et leur importance restent à élucider.

### **3.4. Hormonaux**

Les données épidémiologiques révèlent que la PR est entre deux à trois fois plus fréquente chez la femme que chez l'homme (5), laissant supposer une implication hormonale dans le déclenchement de la maladie.

D'autre part, la grossesse possède un effet protecteur à la fois sur le déclenchement et l'activité de la PR. Ce mécanisme pourrait être lié au fait que les hormones placentaires stéroïdiennes suppriment directement ou indirectement l'inflammation synoviale et favorisent la tolérance immunitaire (18).

On note également que la PR se présente le plus souvent après la ménopause et qu'une ménopause à un âge jeune augmente le risque de PR (19).

## **4. Physiopathologie de la polyarthrite rhumatoïde**

La PR est une maladie complexe et les mécanismes physiopathologiques mis en jeu sont multiples et varient en fonction du stade de la maladie : préclinique, précoce ou établi.

### **4.1. PR pré-clinique**

Dans la majorité des cas, la PR se développe des années avant l'apparition des premiers signes et symptômes cliniques.

Les données actuelles suggèrent que l'origine de la maladie provient de l'intrication de facteurs environnementaux et de modifications épigénétiques chez un individu génétiquement prédisposé, conduisant à une rupture de la tolérance immunitaire et au déclenchement d'une réponse immune. L'exposition à un ou des facteurs de risque environnementaux induit des modifications post-traductionnelles (telle que la citrullination) de protéines / peptides intracellulaires ou matricielles (telles que la fibronectine, le collagène, le fibrinogène, l'énolase ou la vimentine) au niveau des muqueuses. Les protéines / peptides ayant subi ces modifications post-traductionnelles se lient alors aux protéines du complexe d'histocompatibilité (CMH), notamment celles porteuses de l'épitope partagé, conduisant à la présentation d'antigènes aux lymphocytes T.



L'interaction entre les lymphocytes T activés et les lymphocytes B via les molécules de co-stimulation (CD40/CD40L) va être à l'origine de la différenciation des lymphocytes B en plasmocytes. Ces plasmocytes vont être à l'origine de la production d'auto-anticorps (auto-Ac) dont les ACPA et les FR. La présence d'auto-Ac n'est pas suffisante pour provoquer une synovite.

Un second signal lié à différents mécanismes tels que la formation de complexes immuns, l'activation du complément ou des lésions micro-vasculaires est probablement nécessaire pour initier une synovite clinique caractérisée par une perméabilité vasculaire accrue et un afflux de cellules inflammatoires au sein de la synoviale (20).

#### **4.2. PR précoce vers un stade établi**

Une synoviale saine est une membrane constituée d'une couche intimale composée de synoviocytes macrophagiques et de synoviocytes fibroblastiques (fibroblast-like synoviocytes ou FLS) et d'une couche sous-intimale composée de fibroblastes, d'adipocytes, de vaisseaux sanguins et de cellules immunitaires. L'intima n'est pas une barrière imperméable car elle est dépourvue de membrane basale et de jonctions serrées. Elle permet un transfert relativement libre de cellules et de protéines vers le liquide synovial.

L'activation du système immunitaire au cours de la PR va entraîner une infiltration de cellules immunitaires au sein de la synoviale, aboutissant au développement d'une synovite. La composition cellulaire de la synovite comprend d'une part, des cellules de l'immunité innée, avec les monocytes, les macrophages, les cellules dendritiques, les mastocytes et d'autre part, des cellules participant à l'immunité acquise, comme les lymphocytes T (lymphocytes T helper 1 et 17), les lymphocytes B, les plasmocytes.

Dans un premier temps, la membrane synoviale s'hypertrophie en raison d'une prolifération et d'une activation des deux types de synoviocytes, les synoviocytes macrophagiques et les synoviocytes fibroblastiques, formant à terme ce que l'on appelle le pannus synovial. Les synoviocytes macrophagiques produisent des cytokines pro-inflammatoires, telles que l'interleukine 1 et 6 (IL-1, IL-6), le facteur de nécrose tumorale (TNF). Bien que les FLS sécrètent également l'IL-6, leur caractéristique la plus importante est la production de quantités prodigieuses de métalloprotéases matricielles (MMP) ainsi que de prostaglandines et de leucotriènes. La deuxième étape correspond à l'infiltration de cellules immunitaires adaptatives au sein de la synoviale. Environ la moitié des cellules sont des lymphocytes T mémoires CD4 + qui peuvent soit s'infiltrer de manière diffuse dans le tissu, soit entrer dans la composition de centres germinatifs ectopiques dans lesquels les cellules B matures prolifèrent, se différencient et finissent par produire des auto-Ac. Ces cellules vont, elles aussi, produire des cytokines et chimiokines parmi lesquelles le TNF, l'IL-6 jouent un rôle majeur, notamment en activant les cellules endothéliales et en attirant les cellules immunitaires au sein de la synoviale (21).

Au stade établi, la PR est caractérisée par une perte cartilagineuse et osseuse entraînant des déformations articulaires. La destruction du cartilage et de l'os articulaire met en jeu deux types de mécanismes. L'un, est directement dépendant de la progression de la maladie et notamment du statut inflammatoire et de la progression du pannus synovial. L'autre fait intervenir des dispositifs plus spécifiques, directement associés à des variations dans les remodelages osseux et cartilagineux (20,21).

#### **4.2.1. Lésions cartilagineuses**

En condition physiologique, le cartilage possède des capacités de régénération limitées. Son remodelage ne fait intervenir qu'un type cellulaire, les chondrocytes, qui réalisent à la fois la synthèse de la matrice cartilagineuse et sa dégradation.

Au cours de la PR, la synthèse de MMP par les FLS (en particulier MMP-1, 3, 8, 13, 14 et 16) favorise le désassemblage du réseau de collagène de type II, directement responsable du dysfonctionnement biomécanique du cartilage. D'autres enzymes de la matrice telles que ADAMTS 5 dégradent l'aggrécane (un protéoglycane majeur de la matrice cartilagineuse) et diminuent ainsi davantage l'intégrité du cartilage.

Par ailleurs, l'action du réseau des cytokines synoviales conduit à l'apoptose des chondrocytes.

Ces processus conduisent finalement à la destruction du cartilage articulaire (9).

#### **4.2.2. Destruction osseuse**

La destruction osseuse survient rapidement (touchant 80% des patients dans l'année suivant le diagnostic) et est associée à l'inflammation prolongée au cours de la PR.

Cette destruction osseuse est en grande partie due à la maturation et à l'activation des ostéoclastes par l'activateur du récepteur du ligand du facteur nucléaire  $\kappa$ B (RANKL) produit par les lymphocytes T. Le TNF, l'IL-1, et l'IL-6 produits par les macrophages synoviaux et les FLS amplifient la différenciation et l'activation des ostéoclastes.

Il a également été suggéré que les ACPA interagissent avec les peptides citrullinés (telle que la vimentine citrullinée) exprimés par les ostéoclastes et les précurseurs des ostéoclastes, conduisant à la maturation et à l'activation des ostéoclastes.

Une fois activés, les ostéoclastes dégradent la matrice osseuse minéralisée conduisant à des érosions osseuses (9,20).

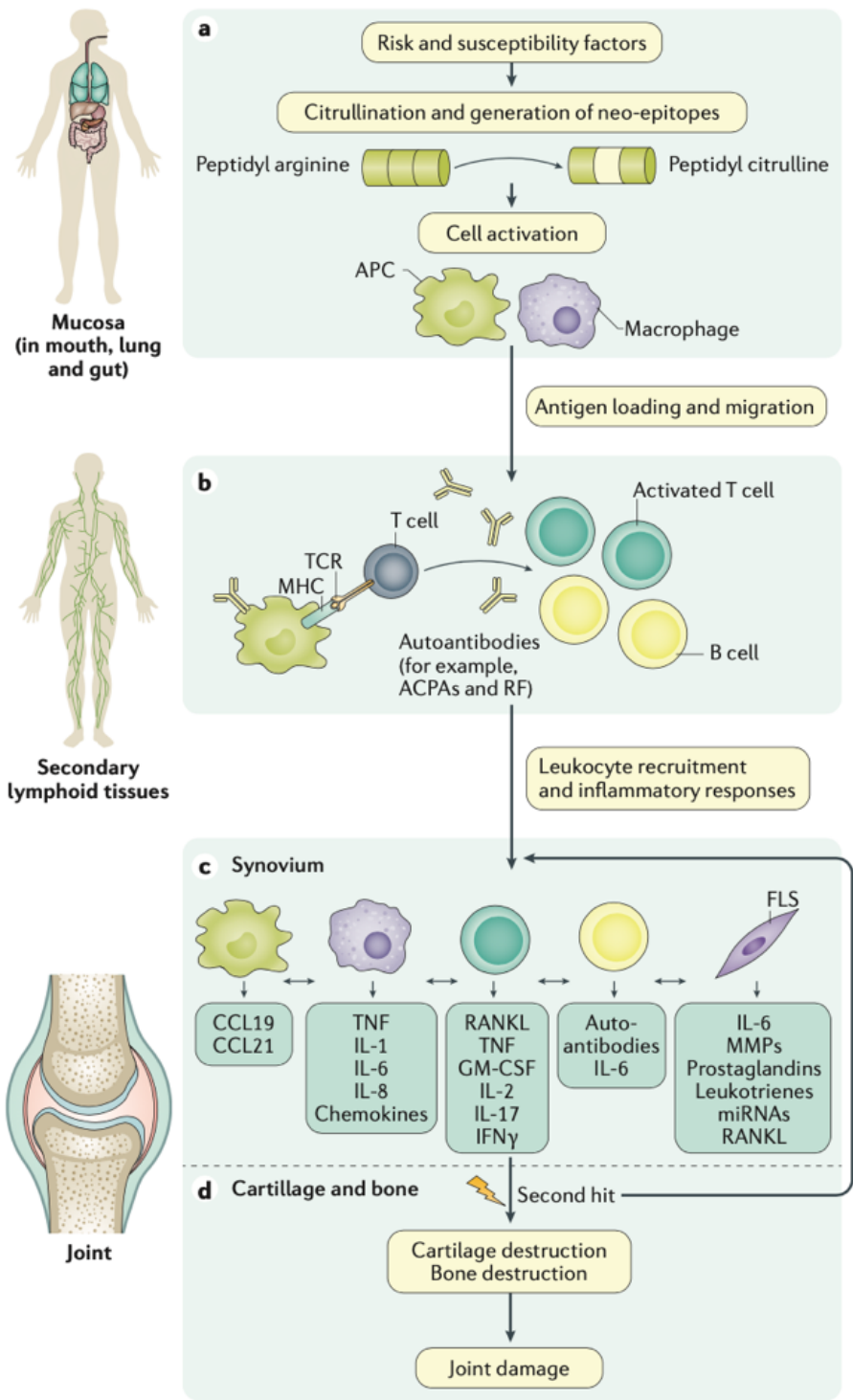


Figure 1 - Physiopathologie de la PR (d'après Smolen et al. (20))

## **5. Clinique**

### **5.1. Manifestations articulaires**

La PR est une maladie polyarticulaire bilatérale et symétrique touchant principalement les articulations des mains et des pieds.

Le gonflement articulaire (traduisant la présence d'une synovite et / ou d'une arthrite) est la caractéristique clinique clé de la PR.

Les articulations les plus fréquemment atteintes sont les poignets, les articulations métacarpophalangiennes (MCP), les métatarsophalangiennes (MTP) et les interphalangiennes proximales (IPP). Lorsque les doigts sont touchés, le gonflement se concentre autour de l'articulation (atteinte fusiforme) plutôt que de toucher le doigt en entier (dactylite), comme on peut le voir dans le rhumatisme psoriasique. Les petites et grandes articulations peuvent être impliquées, bien que les articulations interphalangiennes distales (IPD) soient rarement touchées.

La PR se distingue également des autres formes de rhumatismes par sa nature hautement destructrice, qui conduit à une dégradation du cartilage et à la destruction de l'os articulaire et péri-articulaire.

L'ensemble de ces caractéristiques cliniques ne sont toutefois pas spécifiques de la PR.

Ainsi, de nombreuses entités présentent des tableaux cliniques relativement similaires rendant le diagnostic difficile notamment à un stade précoce de la maladie (5,20).

### **5.2. Manifestations extra-articulaires**

En tant que maladie systémique, la PR est associée à une réaction inflammatoire accrue et peut entraîner un certain nombre de manifestations extra-articulaires.

Ces manifestations sont inconstantes et constituent un facteur pronostique de sévérité de la maladie, pouvant parfois engager le pronostic vital des patients. Leur incidence est estimée entre 17.8 à 40.9% selon les études.

La peau est le site le plus fréquemment touché. Les manifestations extra-articulaires cutanées comprennent les nodules rhumatoïdes ainsi qu'un phénomène de Raynaud et les vascularites cutanées.

L'atteinte pulmonaire est également fréquente, retrouvée chez 5 à 10% des patients atteints de PR, et représente l'une des principales causes de morbidité et de mortalité. Elle a une présentation clinique hétérogène, pouvant entraîner une pneumopathie interstitielle diffuse, une maladie des petites voies respiratoires, des nodules rhumatoïdes, une pleurésie rhumatoïde, ainsi que des vascularites pulmonaires.

Des manifestations cardiovasculaires peuvent survenir au cours de la maladie. Toutes les structures cardiaques peuvent être impliquées mais l'atteinte la plus fréquente est la péricardite.

La PR peut également être accompagnée de manifestations oculaires, d'un syndrome de Gougerot-Sjögren secondaire.

L'inflammation chronique liée à la maladie peut en elle-même conduire à des comorbidités cardiovasculaires dues à une athérosclérose accélérée et parfois à une amylose secondaire (2,20).

## **6. Diagnostic**

L'un des défis actuels dans la prise en charge de la PR est de poser le diagnostic le plus tôt possible afin d'initier un traitement rapidement pour ralentir l'évolution de la maladie.

En effet, les données de la littérature indiquent que les patients vus rapidement par le rhumatologue après le début des symptômes ont un meilleur pronostic structural et un recours moins fréquent à la chirurgie orthopédique que ceux vus tardivement (22).

Toutefois, il n'existe pas à l'heure actuelle de définition consensuelle (« gold standard ») pour poser le diagnostic de PR.

## **6.1. Recommandations de la Société Française de Rhumatologie**

Les recommandations de la Société Française de Rhumatologie (SFR) sur la prise en charge de la PR publiées en 2018 stipulent que le diagnostic doit être évoqué devant certains signes cliniques tels qu'un gonflement articulaire (synovite / arthrite clinique), une raideur matinale de plus de 30 min, une douleur à la pression transverse des mains ou des avants-pieds, confirmé le plus tôt possible (idéalement dans les 6 semaines) par l'examen clinique du rhumatologue et par des examens biologiques (vitesse de sédimentation, protéine C-réactive, ACPA, FR) et d'imagerie (radiographies, échographies), après avoir éliminé les diagnostics différentiels.

La confirmation du diagnostic de PR repose donc sur un faisceau d'arguments cliniques et paracliniques qui permettent aussi d'éliminer un éventuel diagnostic différentiel (22).

## **6.2. Critères de classification ACR/EULAR**

En 2010, de nouveaux critères permettant d'harmoniser au niveau international la définition précise d'une PR ont été publiés conjointement par l'American College of Rheumatology (ACR) et l'European League Against Rheumatism (EULAR) (Tableau 2) (23).

Avant la publication de 2010, les critères de classification de la PR dataient de 1987 (Tableau 3) (24). Ces critères comprenaient notamment la présence de nodules rhumatoïdes et la présence de modifications radiologiques typiques, signes évocateurs de PR établie. Ils n'étaient donc pas adaptés au diagnostic de PR débutante.

Les critères de classification ACR/EULAR 2010 ont été établis, pour les patients atteints d'arthrite débutante, sur la probabilité d'instauration du méthotrexate à 1 an et sur le risque de développer une arthrite persistante et / ou érosive. Ils ont été développés comme des critères de classification. En pratique, ces critères sont aussi couramment utilisés en tant que critères diagnostiques.

L'application de ces critères ne peut s'envisager qu'en présence d'au moins une synovite clinique et en l'absence de diagnostic différentiel pouvant expliquer les symptômes. De plus, si un patient présente des lésions érosives typiques sur les radiographies standards, il peut d'emblée être classé comme ayant une PR, sans avoir à appliquer les critères ACR/EULAR 2010. Les lésions érosives typiques de PR ont été définies par l'EULAR comme au moins trois articulations érosives parmi les poignets, les MCP, les IPP et les MTP (25). Le calcul du score prend en compte la durée d'évolution des symptômes, le nombre d'articulations atteintes, les marqueurs d'inflammation et la sérologie. Un score supérieur ou égal à six est nécessaire pour classer un patient comme atteint de PR.

| Criterion  | Definition   |
|--|--|
| 1. Arthritis of 3 or more joint areas  | At least 3 joint areas simultaneously have had soft tissue swelling or fluid (not bony overgrowth alone) observed by a physician. The 14 possible joint areas are right or left PIP, MCP, wrist, elbow, knee, ankle, and MTP joints  |
| 2. Arthritis of hand joints<br>Wrist<br>MCP<br>MCP or wrist<br>MCP and wrist | Soft tissue swelling or fluid (not bony overgrowth alone) of the specified area observed by a physician. Where 2 areas are specified, involvement must have been simultaneous  |
| 3. Symmetric swelling (arthritis)  | Simultaneous involvement of the same joint areas (as defined in 1) on both sides of the body (bilateral involvement of PIPs, MCPs, or MTPs is acceptable without absolute symmetry)  |
| 4. Serum rheumatoid factor   | Demonstration of abnormal amounts of serum rheumatoid factor by any method for which the result has been positive in <5% of normal control subjects  |
| 5. Radiographic changes of rheumatoid arthritis                              | Radiographic changes typical of rheumatoid arthritis on posteroanterior hand and wrist radiographs which must include erosions or unequivocal bony decalcification localized in or most marked adjacent to the involved joints (osteoarthritis changes alone do not qualify) |

\* A patient is said to have RA if he/she is included in 1 of the 5 RA subsets listed in Table 7 and has a clinical diagnosis of RA by his/her physician. Criteria 1, 2, and 3 must have been present for at least 6 weeks. See Table 3 for definitions of abbreviations.

Tableau 2 - Critères de classification ACR 1987 (d'après Arnett et al. (24))



| Domaines                    | Items  | Score |
|-----------------------------|--|-------|
| A- Articulations atteintes  | 1 grosse articulation                              | 0     |
|                             | 2–10 grosses articulations                         | 1     |
|                             | 1–3 petites articulations                          | 2     |
|                             | 4–10 petites articulations                         | 3     |
|                             | > 10 articulations dont au moins 1 petite          | 5     |
| B- Sérologie                | FR et ACPA négatifs                                | 0     |
|                             | FR et/ou ACPA positifs à taux faibles <sup>a</sup> | 2     |
|                             | FR et/ou ACPA positifs à forts taux <sup>a</sup>   | 3     |
| C- Marqueurs d'inflammation | VS et CRP normales                                 | 0     |
|                             | VS et/ou CRP anormales                             | 1     |
| D- Durée d'évolution        | < 6 semaines                                       | 0     |
|                             | ≥ 6 semaines                                       | 1     |

ACR : American College of Rheumatology ; EULAR : EUropean League Against Rheumatism ; PR : polyarthrite rhumatoïde ; FR : facteur rhumatoïde ; ACPA : anticorps anti-protéines citrullinées ; CRP : c-réactive protéine ; VS : vitesse de sédimentation. Critères de classification de la PR : calculer les scores des domaines A à D : un score  $\geq 6/10$  est nécessaire pour classer le patient comme atteint de PR.

<sup>a</sup> Faibles taux : taux inférieurs ou égaux à trois fois la limite supérieure de la normale ; forts taux : taux supérieurs à trois fois la limite supérieure de la normale.

Tableau 3 - Critères de classification ACR/EULAR 2010 (d'après Hua et Combe (26))

## 6.2.1. Définition des items des critères de classification ACR/EULAR 2010

### 6.2.1.1. Articulations atteintes

L'atteinte articulaire, telle qu'utilisée pour le calcul du score, diffère de la définition de la synovite clinique, condition indispensable à l'application des critères de classification. Elle se réfère ici à toute articulation gonflée ou douloureuse constatée à l'examen clinique, le jour de l'évaluation. Les articulations interphalangiennes distales, la première métatarsophalangienne ainsi que la première carpométacarpienne ne doivent pas être considérées. L'atteinte articulaire peut être définie cliniquement ou par technique d'imagerie (échographie, IRM). Le terme « petites articulations » se réfère aux MCP, IPP, deuxième à cinquième MTP et aux poignets. Les « grandes articulations » incluent les épaules, les coudes, les hanches, les genoux et les chevilles.

### **6.2.1.2. Sérologie**

La positivité du FR ou des ACPA est prise en compte de la même manière. La positivité du FR ou des ACPA est cotée deux points pour un titre faible et trois points pour un titre élevé (défini comme supérieur à trois fois le seuil de positivité retenu par les laboratoires). Les données des études ont effectivement montré que les titres élevés de FR et d'ACPA sont associés à un diagnostic plus fréquent de PR (27).

La prise en compte de la présence d'ACPA et du titre des auto-Ac (FR et ACPA) est une nouveauté par rapport aux critères ACR 1987.

### **6.2.2. Performances des critères de classification ACR/EULAR 2010**

De nombreuses études de validation des critères ACR/EULAR 2010 en tant que critères de classification ont été publiées. Toutefois, en l'absence de « gold standard » pour porter le diagnostic de PR, il n'y a pas de paramètre de référence unique qui permette de valider les critères. Initialement, l'instauration d'un traitement par méthotrexate a été choisi en tant que paramètre de référence, en tant que substitut au diagnostic de PR. Ce paramètre est pertinent en pratique courante mais n'est pas parfait puisque certains patients atteints d'arthrite indifférenciée requièrent tout de même un traitement par méthotrexate et que tous les patients atteints de PR ne sont pas traités par méthotrexate. Dans une méta-analyse parue en 2013, la sensibilité des critères pour l'introduction du méthotrexate était évaluée à 85% et la spécificité à 52%. Dans cette même étude, la comparaison entre les critères de classification ACR/EULAR 2010 et ceux de 1987 a montré une meilleure sensibilité de 11% et une spécificité légèrement diminuée de 4% des critères ACR/EULAR 2010 par rapport à ceux de 1987 (28).

## **7. Paramètres biologiques : les auto-anticorps**

### **7.1. Facteur rhumatoïde**

#### **7.1.1. Historique**

C'est à la fin des années 1930, à Oslo, que l'immunologiste Erik Waaler a découvert, dans le sérum de patients atteints de PR, l'existence d'un facteur capable de provoquer l'agglutination des globules rouges sensibilisés par un sérum immun. Quelques années plus tard, l'américain Melvin Rose confirma le lien entre pouvoir agglutinant du sérum de patients atteints de PR et l'existence d'un « facteur activateur agglutinant » qui fut baptisé facteur rhumatoïde. Ces recherches ont été à l'origine de l'un des premiers sérodiagnostics de la PR qui porte le nom de test de Waaler-Rose et qui utilise les propriétés des FR à agglutiner des hématies recouvertes d'immunoglobulines G (IgG) de lapin. Les FR sont des auto-Ac qui se lient directement au fragment constant (Fc) des IgG. Ils peuvent être de plusieurs isotypes (IgM, IgG et IgA). La plupart des tests utilisés actuellement détectent les FR IgM.

#### **7.1.2. Intérêt du dosage**

Le dosage de FR a montré un intérêt dans le diagnostic de la PR. La positivité du FR est en effet associée à un risque de développer une PR parmi les patients présentant une arthrite précoce.

La présence de FR n'est toutefois pas spécifique de la PR et est retrouvée dans de nombreuses autres situations pathologiques ou non (Tableau 4). La positivité des FR est estimée à 5% dans la population d'adultes jeunes sains et s'élève jusqu'à 25% chez les sujets âgés de plus de 70 ans (29). Toutefois, les FR chez les sujets atteints de PR se distinguent de ceux retrouvés chez les sujets sains par une plus forte affinité (30).

L'analyse des performances diagnostiques du FR dans la PR a révélé des résultats hétérogènes selon les études. Dans une revue de la littérature menée par l'EULAR en 2016, la sensibilité du FR dans la PR était estimée entre 40 et 80% tandis que la spécificité était située entre 60 et 100% (27).

Le dosage de FR a également un intérêt pronostique. La présence de taux élevé de FR (supérieur à trois fois le seuil de positivité du laboratoire) est associée à un risque d'apparition de lésions structurales radiographiques ainsi qu'à l'apparition de manifestations extra-articulaires (27,31).

Il est à noter que le taux de FR peut décroître voire se négativer au cours de la maladie après initiation d'un traitement antirhumatismal modificateur de la maladie (Disease Modifying Antirheumatic Drug ou DMARD) (32).

| Disease   | Frequency, % |
|---|--------------|
| <b>Arthritis</b>  |              |
| Rheumatoid arthritis  | 70-90        |
| Juvenile idiopathic arthritis   | 5            |
| Psoriatic arthritis   | <15          |
| Reactive arthritis  | <5           |
| <b>Other connective tissue diseases</b>                               |              |
| Primary Sjögren's syndrome  | 75-95        |
| Mixed connective tissue disease                                       | 50-60        |
| Systemic lupus erythematosus  | 15-35        |
| Systemic sclerosis  | 20-30        |
| Dermato-/polymyositis   | 20           |
| Systemic vasculitides (panarteritis nodosa, Wegener's granulomatosis) | 5-20         |
| <b>Infectious diseases</b>  |              |
| <b>Bacterial infections</b>   |              |
| Subacute bacterial endocarditis                                       | 40           |
| Chlamydia pneumoniae infection  |              |
| Klebsiella pneumoniae infection                                       |              |
| Syphilis primary-tertiary   | 8-37         |
| Tuberculosis  | 15           |
| <b>Viral infections</b>   |              |
| Coxsackie B virus infection   | 15           |
| Dengue virus infection  | 10           |
| EBV and CMV infections  | 20           |
| Hepatitis A, B and C virus infection                                  | 25           |
| HCV infection   | 40-76        |
| Herpes virus infection  | 10-15        |
| HIV infection   | 10-20        |
| Measles   | 8-15         |
| Parvovirus infection  | 10           |
| Rubella   | 15           |
| <b>Parasitic</b>  |              |
| Chagas  | 15-25        |
| Malaria   | 15-18        |
| Onchocerciasis  | 10           |
| Toxoplasmosis   | 10-12        |
| <b>Other diseases</b>   |              |
| Mixed cryoglobulinemia type II  | 100*         |
| Liver cirrhosis   | 25           |
| Primary biliary cirrhosis   | 45-70        |
| Malignancy  | 5-25         |
| After multiple immunisations  | 10-15        |
| Chronic sarcoidosis   | 5-30         |
| Healthy 50-year olds  | 5            |
| Healthy 70-year olds  | 10-25        |

\* Monoclonal IgM rheumatoid factors; CMV: cytomegalovirus; EBV: Epstein-Barr virus; HCV: hepatitis C virus; HIV: human immunodeficiency virus. Adapted from [24, 25].

Tableau 4 - Fréquence du FR dans différentes situations (d'après Ingegnoli et al(29))

### 7.1.3. Méthodes de détection

Depuis le test d'agglutination de Waaler-Rose, de nombreuses méthodes de détection du FR ont été développées.

Les méthodes recommandées en France par la HAS en 2007 sont le dosage de l'isotype IgM par technique ELISA ou par néphélémétrie (33).

#### 7.1.3.1. Néphélémétrie

La technique de détection du FR par néphélémétrie repose sur la capacité d'agglutination du FR. Cette technique mesure l'intensité de la lumière dispersée par le complexe formé de particules de polystyrène sensibilisées par des Ig et de FR. Les Ig fixées sur le polystyrène peuvent être d'origine humaine, animale ou constituées d'un mélange. Le degré de la lumière diffusée est fortement corrélé à la concentration en FR. C'est une technique automatisable et facilement reproductible (34).

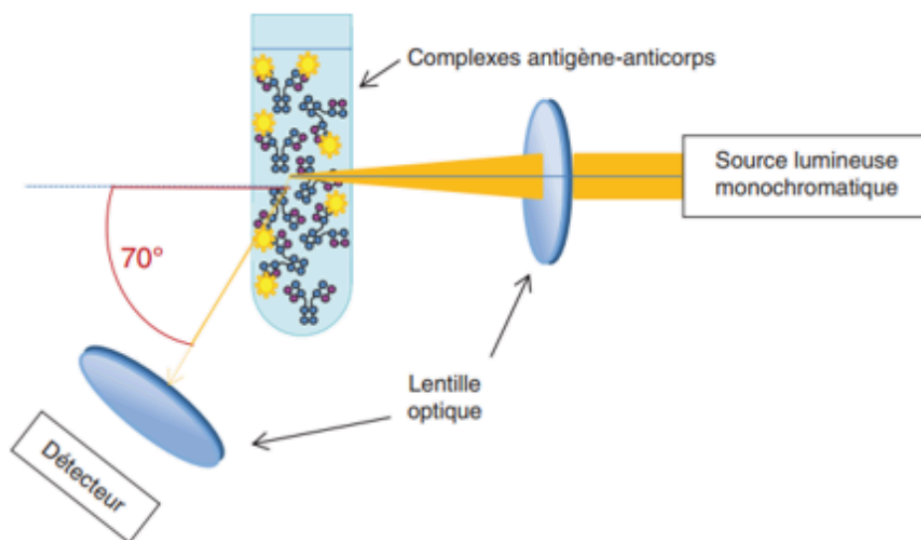


Figure 2 - Principe de la néphélémétrie (d'après univ.ency-education.com)

### 7.1.3.2. ELISA

La technique ELISA repose sur la réactivité des auto-Ac avec un antigène fixé sur un support plastique et la détection des complexes antigène-anticorps à l'aide d'un deuxième Ac conjugué à une enzyme dont l'activité, qui se traduit par une coloration spécifique de son substrat, reflète la quantité d'auto-Ac fixés. Dans le cadre de la détection du FR, l'anticorps anti-Ig humaine utilisée peut être spécifique pour les IgM, IgG ou IgA, permettant ainsi la quantification des FR IgM, IgG RF ou IgA RF.

Cette technique est désormais largement utilisée du fait de la simplicité de la procédure et d'une automatisation qui se généralise, permettant la réalisation rapide de grandes séries d'analyses. Toutefois, elles ne sont généralement pas harmonisées d'où une divergence des résultats entre les différents kits commerciaux disponibles (35).

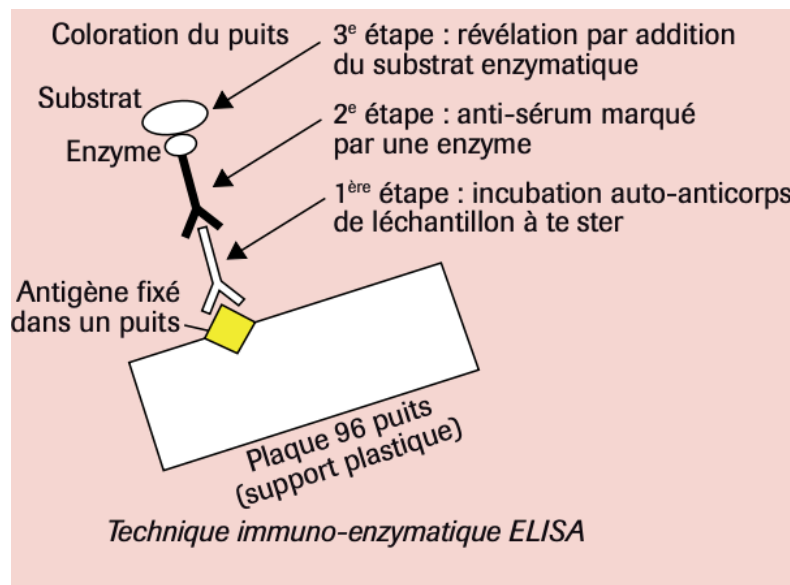


Figure 3 - Principe d'un immunodosage par ELISA (d'après cri-net.com)

## 7.2. ACPA

### 7.2.1. Historique

En 1964, Nienhuis et Mandema ont rapporté que les Ac présents dans le sérum de patients atteints de PR réagissaient de manière très spécifique avec les granules de kératohyaline présents dans les cellules de la muqueuse buccale. Un test sérologique basé sur cette découverte a été mis au point, le test anti-facteur périnucléaire (APF). Par la suite, l'équipe de Serre a démontré que les APF étaient dirigés contre la filaggrine, un composant des granules de kératohyaline.

Il a fallu attendre 1998 pour mettre en évidence que la citrulline présente sur la filaggrine est un constituant essentiel des déterminants antigéniques reconnus par les auto-Ac spécifiques de la PR. Ces auto-Ac ont été regroupés sous le terme d'ACPA (36).

De nos jours, de nombreuses autres protéines citrullinées ont été identifiées dans le sérum et le liquide synovial des patients atteints de PR.

Les premiers tests utilisés pour mettre en évidence ces ACPA utilisaient soit des peptides citrullinés linéaires ou de la filaggrine citrullinée comme antigène. Leur spécificité était excellente, toutefois les sensibilités obtenues étaient relativement faibles. Pour augmenter la sensibilité des méthodes de détection ELISA de ces ACPA, des tests utilisant des peptides rendus cycliques (test CCP) ont été mis au point.

Le test CCP ELISA de première génération (test CCP1) utilisait un peptide cyclique citrulliné dérivé de la filaggrine comme substrat antigénique. Cependant, cette protéine est absente au sein de la synoviale chez les patients PR.

D'autres peptides citrullinés ont donc été utilisés comme substrats antigéniques aboutissant au test CCP de deuxième génération (test CCP2) commercialisé pour la première fois en 2002.

Selon les données de la littérature, le test CCP2 est toujours considéré de nos jours comme le test de référence pour la détection des ACPA (37).

### **7.2.2. Intérêt du dosage**

Depuis leur mise en évidence, les ACPA ont prouvé leur intérêt dans le diagnostic de la PR. Leur dosage est recommandé en première intention chez tout patient présentant une arthrite précoce en l'absence de cause évidente identifiée (38). Ils ont été intégrés aux critères de classification de la PR ACR/EULAR 2010 au même titre que les FR (23).

Les performances diagnostiques des ACPA pour la PR ont été analysées dans une revue de la littérature menée par l'EULAR. Ainsi, la sensibilité des ACPA pour la PR a été évaluée entre 40 à 80% selon les études, soit comparable à celle du FR mais leur spécificité est bien supérieure, située entre 80 et 100% (27).

Malgré cette bonne spécificité, les ACPA peuvent être détectés dans d'autres situations cliniques notamment dans le rhumatisme psoriasique (9%), le lupus érythémateux disséminé (8%), l'arthrite juvénile idiopathique (8%), la sclérodermie (7%), le syndrome de Gougerot-Sjögren (6%) (39).

La présence d'ACPA est associée à un risque de destruction articulaire plus important chez les patients atteints de PR. Les patients PR ACPA+ développent ainsi des érosions de manière plus importante et plus précoce que les patients PR ACPA- (31). Les ACPA peuvent être détectés plusieurs années avant l'apparition des premiers signes cliniques dans la PR. Le statut en ACPA reste globalement stable au cours de l'évolution de la maladie. Des diminutions du taux d'ACPA peuvent être observées avec l'utilisation de traitements de fond de la PR, mais ces variations sont moins importantes que celles du FR et la négativation en ACPA n'est généralement pas observée (32).

### **7.2.3. Méthodes de détection**

Depuis la découverte des ACPA dans les années 1990, de nombreuses méthodes de détection ont vu le jour.

Le test CCP2 a permis le dépistage systématique et généralisé d'Ac dirigés contre les épitopes citrullinés. Les peptides CCP2 assurent la détection d'une large gamme d'Ac dirigés contre les protéines citrullinées.



Le test CCP3 est basé sur une technique ELISA utilisant une collection de peptides citrullinés établie par un fabricant distinct de celui qui a développé le test CCP2.

Les tests CCP2 et CCP3 ont montré des performances diagnostiques similaires dans la plupart des études les comparant.

Toutefois, des études ont montré que des différences de performances diagnostiques pourraient être observées en fonction du stade de la maladie. Ainsi, le test CCP2 semble plus spécifique chez les patients présentant une PR établie, tandis que chez les sujets souffrant d'arthrite indifférenciée, le test CCP3 pourrait avoir une valeur prédictive positive (VPP) plus élevée pour la PR (40).

Un test ELISA pour la détection d'Ac anti-vimentine citrullinée mutée (MCV) a été développé après que certaines études aient montré que la vimentine citrullinée peut être un auto-Ag impliqué dans la physiopathologie de la PR. Le test anti-MCV présente des performances diagnostiques similaires aux tests CCP2 et CCP3 (39).

### **7.3. Anticorps anti-peptides carbamylés**

La carbamylation est une modification post-traductionnelle consistant en la liaison non enzymatique de l'acide cyanique aux groupes aminés libres (NH<sub>2</sub>) des protéines, convertissant les résidus de lysine en homocitrulline. Comme pour la citrullination, la carbamylation modifie la conformation des protéines et peut générer des néo-épitopes sur les protéines du soi, induisant ainsi des maladies auto-immunes. Une étude expérimentale rapportée en 2010 a montré que l'immunisation de souris avec des peptides carbamylés induit une réponse immunitaire primaire avec production d'Ac anti-peptides carbamylés (anti-CarP) et le développement d'une arthrite érosive (41). Reguero et al. ont montré que la sensibilité des anti-CarP dans la PR est plus basse que celles des anti-CCP et des FR, estimée à 41.9% mais leur spécificité est aussi élevée que celle des anti-CCP. La sensibilité des anti-CarP diminue encore chez les patients séronégatifs en anti-CCP et FR. En revanche, la spécificité reste élevée chez ces patients. Ces résultats pourraient indiquer une valeur potentielle, mais modeste, des anticorps anti-CarP pour classer les patients dépourvus d'autres auto-Ac (42).

## **8. Prise en charge thérapeutique dans la PR**

L'amélioration spectaculaire dans la prise en charge de la PR est la conséquence de plusieurs changements de paradigmes survenus au cours des deux dernières décennies.

Premièrement, le diagnostic précoce et l'instauration rapide d'un traitement efficace sont devenus obligatoires. C'est dans ce sens qu'ont été établis les nouveaux critères de classification ACR/EULAR 2010.

Deuxièmement, des instruments fiables d'évaluation clinique ont été mis au point et utilisés dans le cadre de la recherche et la pratique clinique.

Troisièmement, la rémission (ou au minimum la faible activité de la maladie) est désormais l'objectif thérapeutique principal dont l'obtention passe par une stratégie de cible thérapeutique (« treat-to-target »).

Enfin, les agents biologiques sont entrés dans le domaine de la PR.

La combinaison de toutes ces avancées a considérablement amélioré le pronostic de la maladie pour de nombreux patients (20).

### **8.1. Objectif du traitement et organisation de la prise en charge**

Dès que le diagnostic de PR est posé, un traitement de fond doit être débuté. Les trois premiers mois d'évolution de la maladie constituent une « fenêtre d'opportunité thérapeutique » au cours de laquelle le traitement de fond devrait idéalement être introduit. Les données actuelles de la littérature indiquent un meilleur pronostic clinique (réponse au traitement, retentissement fonctionnel, obtention de la rémission) mais aussi radiographique (prévention de l'apparition des érosions, limitation de la progression structurale) lorsque le traitement est débuté dans les trois mois suivant l'apparition des symptômes (22).

Le but du traitement est la rémission de la maladie (ou au minimum la faible activité). La rémission empêche l'apparition de lésions ou, en cas de destruction articulaire, sa progression.

Les critères retenus par l'EULAR et l'ACR pour définir la rémission sont :

- la rémission booléenne (nombre d'articulations douloureuses, nombre d'articulations gonflées, échelle visuelle analogique (EVA) de l'activité de la maladie et CRP (en mg/dL) tous  $\leq 1$ ) ;
- le Simplified Disease Activity Index ou SDAI  $\leq 3,3$  (SDAI calculé à partir du nombre d'articulations douloureuses, du nombre d'articulations gonflées, de l'EVA activité évaluée par le médecin, de l'EVA activité évaluée par le patient et de la CRP (en mg/dL)) (43).

La stratégie thérapeutique actuelle implique une approche de cible thérapeutique basée sur une surveillance étroite de l'activité de la maladie et une adaptation thérapeutique si l'objectif de traitement n'est pas atteint (44). L'activité de la maladie doit être mesurée par des critères composites validés, incluant les indices articulaires. Il existe différents critères composites validés permettant de mesurer l'activité de la maladie notamment le DAS28-VS, le DAS28-CRP, le SDAI et le CDAI. Le suivi de la maladie par le rhumatologue doit être fréquent (1 à 3 mois) tant que la maladie est active. L'introduction de tout nouveau traitement doit apporter une amélioration d'au moins 50% de l'activité de la maladie dans les 3 mois, et l'objectif du traitement doit être atteint dans les 6 mois. Dans le cas contraire, le traitement doit être adapté.

Outre l'activité de la maladie, le choix et l'adaptation du traitement doivent être guidés par d'autres facteurs tels que la progression structurale, les comorbidités, la tolérance des traitements, l'adhésion et l'avis du patient (22,45).

## **8.2. Traitements de fond : DMARD**

Un DMARD est défini comme un médicament qui interfère avec les signes et symptômes de la PR, améliore la fonction physique et inhibe la progression des lésions articulaires.

Il existe deux grandes classes de DMARD, les DMARD synthétiques (sDMARD) et biologiques (bDMARD). Les DMARD synthétiques sont eux-mêmes divisés en deux sous-catégories, les DMARD synthétiques conventionnels (conventional synthetic DMARD ou csDMARD) et les DMARD synthétiques ciblés (targeted synthetic DMARD ou tsDMARD).

### **8.2.1. csDMARD**

Les csDMARD ont été utilisés en pratique clinique sur la base d'observations empiriques. Ils sont utilisés depuis plus de 50 ans. Toutefois, leurs cibles moléculaires n'ont toujours pas été clairement identifiées.

Parmi les csDMARD, le méthotrexate représente un pilier dans la prise en charge de la PR. Il est efficace en monothérapie mais fait également partie de la base de thérapies combinées, soit associé avec une corticothérapie, soit avec d'autres csDMARD, bDMARD ou tsDMARD. Une fois débuté, sa posologie doit être augmentée progressivement jusqu'à une dose hebdomadaire d'environ 0,3 mg/kg et cette posologie doit être atteinte dans les 4 à 6 semaines d'introduction du traitement. La dose thérapeutique optimale est d'environ 20 à 25 mg par semaine dans les pays occidentaux. La prescription de méthotrexate doit être accompagnée d'une supplémentation en acide folique d'au moins 10 mg/semaine afin de limiter ses effets indésirables. 25 à 40% des patients présentent une amélioration significative avec le méthotrexate utilisé en monothérapie et presque la moitié des patients peuvent atteindre une faible activité de la maladie ou la rémission lorsqu'il est associé avec une corticothérapie (5).

Chez les patients présentant une contre-indication au méthotrexate (ou une intolérance précoce), le léflunomide ou la sulfasalazine doivent être envisagés dans le cadre du traitement de première ligne.

Une corticothérapie à court terme doit être envisagée lors de l'initiation ou du changement de csDMARD dont la décroissance doit être programmée le plus rapidement possible, dès que l'évolution clinique le permet (visant un arrêt complet à 3 mois) (45).

### **8.2.2. bDMARD et tsDMARD**

Les agents thérapeutiques biologiques actuellement approuvés dans le traitement de la PR ont quatre modes d'action différents : l'inhibition du TNF, l'inhibition de l'IL-6, le blocage de la co-stimulation des cellules T et la déplétion des cellules B.

Parmi les inhibiteurs du TNF, cinq molécules sont actuellement utilisées en pratique courante, l'infliximab, administré par voie intraveineuse et quatre autres anti-TNF utilisés par voie sous-cutanée (adalimumab, certolizumab, étanercept et golimumab). L'étanercept est une protéine de fusion composée d'une fraction du récepteur soluble du TNF, tandis que les autres sont des anticorps monoclonaux.

Les inhibiteurs de l'IL-6 sont actuellement représentés par le tocilizumab, un anticorps monoclonal humanisé dirigé contre les récepteurs solubles et transmembranaires de l'IL-6 et le sarilumab, un inhibiteur du récepteur de l'IL-6 humaine.

L'abatacept est actuellement le seul inhibiteur de co-stimulation des lymphocytes T approuvé dans la PR.

Le rituximab est le seul anticorps monoclonal dirigé contre les lymphocytes B autorisé dans le traitement de la PR, ciblant le CD20.

Le premier DMARD synthétique ciblé développé dans la PR est le tofacitinib, un inhibiteur pan-JAK. L'inhibition de la voie JAK bloque la transmission du signal et l'activation des cellules stimulées par l'IL-6, le facteur de stimulation des colonies de granulocytes et de macrophages (GM-CSF), les interférons (type I et type II) ainsi que les cytokines IL-2 et IL-15 (21). Actuellement, trois inhibiteurs de la voie JAK ont une autorisation de mise sur le marché dans le traitement de la PR en France : le tofacitinib, le baricitinib et l'upadacitinib.

L'instauration d'un traitement par bDMARD ou tsDMARD doit être envisagé en deuxième ligne lorsque l'objectif thérapeutique n'est pas atteint avec le traitement de première ligne par csDMARD et lorsqu'ils existent des facteurs de mauvais pronostic.

Les facteurs de mauvais pronostic sont définis par :

- la présence d'érosions précoces ;
- la présence de FR et d'ACPA, particulièrement en cas de taux élevés (supérieur ou égal à trois fois le seuil de détection) ;
- la persistance d'une activité de la maladie modérée à forte malgré un traitement par csDMARD avec niveau élevé de VS et CRP et/ou un nombre élevé d'articulations gonflées ;
- l'échec de traitement par deux ou plus csDMARDs.

Toutes les thérapeutiques ciblées (bDMARD ou tsDMARD) doivent être utilisées préférentiellement en association avec un csDMARD, idéalement le méthotrexate.

En cas d'impossibilité d'utiliser un csDMARD en association, les inhibiteurs de la voie de l'IL-6 et les tsDMARD peuvent présenter certains avantages par rapport aux autres bDMARD. En effet, le tocilizumab et les inhibiteurs de JAK en monothérapie donnent des taux de répondeurs proches de ceux obtenus avec la combinaison au méthotrexate dans les études randomisées comme dans les cohortes (22,45).

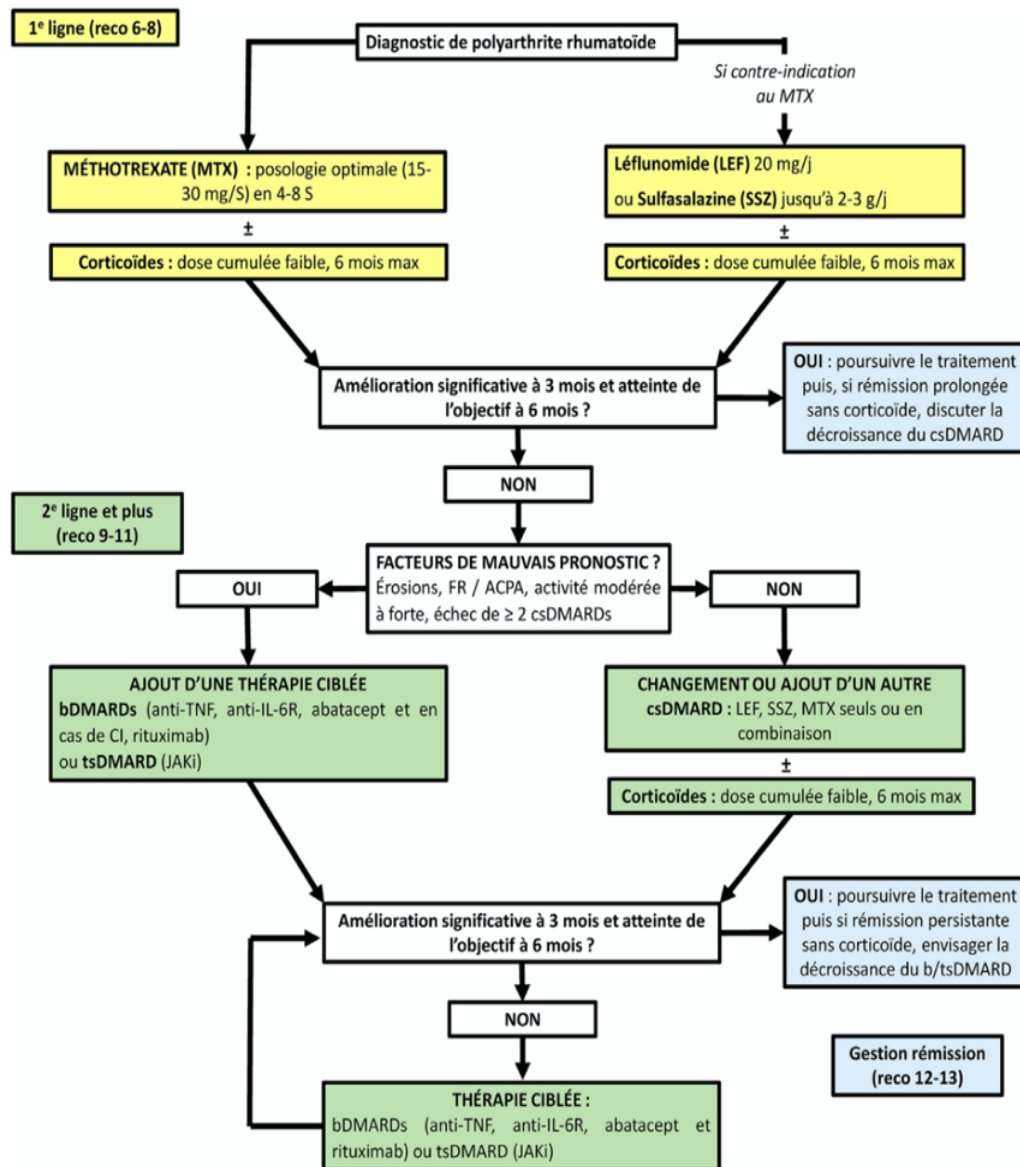


Figure 4 - Stratégie de prise en charge médicamenteuse de la PR (d'après Daien et al. (22))

# **PARTIE 2 : COMPARAISON DES METHODES DE DOSAGE DU FACTEUR RHUMATOIDE**

## **1. Contexte – Objectif du travail**

La PR est l'un des rhumatismes inflammatoires les plus fréquents dans le monde.

Comme nous l'avons vu dans la première partie de ce travail, de nombreuses avancées ont été faites tant sur le plan diagnostique que sur le plan thérapeutique au cours des dernières années.

L'un des enjeux majeurs consiste à introduire un traitement efficace le plus précocement possible afin de ralentir voire de stopper l'évolution naturelle de la maladie. Dans ce sens, il est indispensable de pouvoir poser le diagnostic le plus tôt possible. Toutefois, il n'existe pas à l'heure actuelle de test de référence permettant d'établir le diagnostic de PR avec certitude. Le diagnostic repose sur un faisceau d'arguments cliniques et paracliniques.

Des critères de classification ont été établis conjointement par l'ACR et l'EULAR afin d'harmoniser au niveau international la définition précise d'une PR. En pratique, ces critères de classification sont une aide importante dans la prise en charge des patients présentant une arthrite précoce.

L'analyse de ces critères met en évidence que les FR ainsi que les ACPA ont un poids important dans la classification des patients atteints de PR.

Depuis la découverte de ces auto-Ac et l'étude de leurs mécanismes d'action dans la physiopathologie de la maladie, de nombreuses méthodes de détection ont vu le jour. Actuellement, la plupart des techniques utilisées sont automatisées, permettant l'analyse de sérums en grande quantité de manière relativement simple et reproductible.

Toutefois, des études comparant ces différentes méthodes de dosage d'auto-Ac ont révélé des différences significatives chez des mêmes patients (46).

Historiquement, le laboratoire d'immunologie du CHU de Caen utilise une technique ELISA « maison » pour la recherche de FR.

Les demandes d'examens de plus en plus fréquentes ainsi que les contraintes liées au personnel et à l'accréditation de ces techniques de plus en plus fortes rendent difficile le maintien de ces techniques « maison » en tant que test principal.

Nous avons donc souhaité comparer l'impact de la technique ELISA « maison » du FR réalisée au sein du laboratoire d'immunologie du CHU de Caen avec d'autres techniques commerciales dont des techniques par immunodosage et des techniques par néphélométrie dans l'identification de la PR telle que définie par les critères de classification ACR/EULAR 2010.



## **2. Matériels et méthodes**

### **2.1. Population étudiée**

Nous avons établi la liste des patients pris en charge dans les services de rhumatologie et de médecine interne du CHU de Caen pour lesquels un dosage de FR (par technique ELISA « maison ») et d'anti-CCP (par test CCP2) ont été réalisés au laboratoire d'immunologie du CHU de Caen entre 2015 et 2017. Cette période a été choisie afin d'avoir le recul suffisant dans le suivi de ces patients et l'évolution de leur maladie.

Le but de notre étude étant de comparer l'impact du dosage du FR par différentes techniques de détection dans l'identification de patients PR, nous nous sommes principalement intéressés aux patients présentant des FR à faible taux associés à des anti-CCP négatifs ou à faible taux.

Nous avons ainsi exclu les patients pour lesquels le dosage du FR et des anti-CCP étaient soit tous deux négatifs, soit tous deux positifs à forts taux (supérieur à trois fois le seuil de positivité retenu par le laboratoire).

Nous avons également exclu les patients pour lesquels nous ne possédions pas suffisamment de matériel au sein des sérothèques afin d'effectuer l'ensemble des tests.

Pour ceux dont on disposait d'échantillons suffisants, nous avons réalisé un dosage de FR par immunodosage avec les tests sur automates Phadia (immunodosage par émission de fluorescence), Bioflash (immunodosage par chimiluminescence) et deux tests de néphélométrie, les tests sur automates BN et iSYS.

Au total, 80 échantillons de patients différents ont été testés avec les cinq techniques de détections de FR.

Pour l'ensemble de ces patients, nous avons consulté les dossiers médicaux et recueilli de manière rétrospective les données relatives aux items des critères de classification ACR/EULAR 2010, à savoir le nombre d'articulations atteintes (articulations douloureuses et/ou gonflées définies cliniquement ou par techniques d'imagerie), la durée d'évolution des symptômes ainsi que les marqueurs d'inflammation (CRP et/ou VS) évaluées le jour du dosage des auto-Ac.

Nous avons ainsi pu calculer le score PR selon les critères de classification ACR/EULAR en fonction du dosage du FR mesuré à l'aide des cinq techniques différentes : ELISA « maison », Phadia, Bioflash, BN et iSYS.

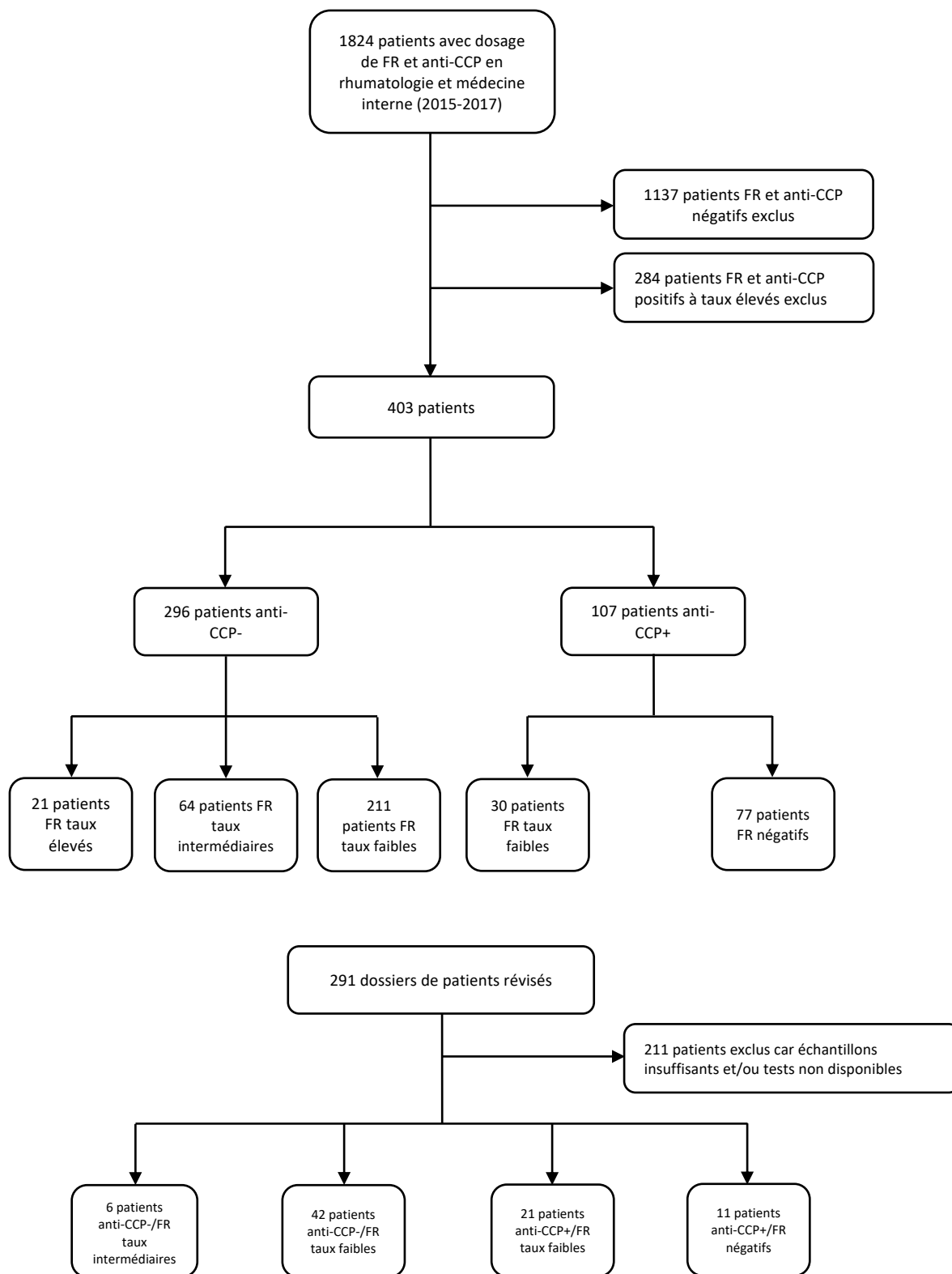
10 patients ont dû être exclus du fait de données manquantes dans les dossiers ne permettant pas le calcul du score. Nous avons donc obtenu cinq scores différents pour 70 patients.

Nous avons également récupéré dans les dossiers des patients le motif ayant conduit au dosage des auto-Ac ainsi que la présence ou non d'un DMARD dans les traitements du patient au moment du dosage des auto-Ac.

Enfin, nous avons recueilli pour chaque patient le diagnostic retenu par les spécialistes (rhumatologues ou médecins internistes).

Dans un premier temps, nous nous sommes attachés à déterminer le degré de concordance entre les techniques en incluant l'ensemble des 80 patients pour lesquels un dosage du FR par l'ensemble des cinq techniques de détection a pu être réalisé.

Dans un second temps, nous avons évalué les performances diagnostiques de ces différentes méthodes de dosage du FR pour la PR en utilisant les critères de classification ACR/EULAR 2010 et en considérant comme « gold standard » le diagnostic retenu par les spécialistes.



FR taux faibles : entre 1 et 2 fois le seuil de positivité\* ; FR taux intermédiaires : entre 2 et 3 fois le seuil de positivité\* ; FR taux élevés : supérieur à 3 fois le seuil de positivité\*

\* Seuil de positivité du FR défini pour la technique ELISA « maison »

Figure 5 - Diagramme de flux de la population de l'étude

## **2.2. Méthodes de dosage de FR comparées**

### **2.2.1. ELISA « maison »**

La technique actuellement utilisée au laboratoire d'immunologie du CHU de Caen est une technique ELISA dite « maison ».

Pour la détection des FR, des microplaques en polystyrène contenant une trentaine de puits sont recouvertes avec une solution d'IgG humaines lyophilisées, en tampon PBS (0,2 mol/L), sous agitation lente pendant 1 à 2 heures à température ambiante. Les puits sont ensuite lavés et saturés avec du PBS-BSA 0,1%. Les plaques sont ensuite vidées, mises à sécher, puis conservées à -20°C. Elles peuvent être utilisées jusqu'à 2 mois maximum.

Le sérum est dilué et incubé pendant une nuit entière à une température située entre 2 et 8°C. Après lavage, un antisérum spécifique d'IgM humaines, couplé à la phosphatase alcaline (PAL) est ajouté. La fixation est révélée par addition du substrat de la PAL, le para-nitrophénylphosphate (PNPP).

Cette technique permet de tester 25 sérums à la fois.

Elle est calibrée à l'aide du sérum de référence pour le FR de l'Organisation Mondiale de Santé (OMS). Les résultats sont exprimés en unités internationales par millilitre (UI/mL).

L'une des principales différences de cette technique ELISA par rapport aux techniques automatisées réside dans la durée d'incubation du sérum (8 heures minimum).

L'ensemble de la technique étant réalisé de manière manuelle, elle nécessite des ressources humaines importantes. Par ailleurs, le profil de linéarité étant plus faible et obligeant à des titrations complémentaires, le temps de rendu des résultats est plus long par rapport aux techniques de détection automatisées.

## 2.2.2. Techniques automatisées

### 2.2.2.1. Immunodosage par chimiluminescence

Des anticorps polyclonaux de lapin sont fixés sur des billes paramagnétiques.

Un échantillon de sérum de patient dilué ainsi que les billes couplées aux IgG et le tampon de dosage sont placés dans une cuvette, puis mélangés. Cette cuvette est alors incubée à 37°C. Les billes sont ensuite magnétisées et lavées à plusieurs reprises. L'anticorps anti-IgM humaine conjugué à l'isoluminol est ensuite ajouté à la cuvette et incubé à 37°C. De nouveau, les billes sont magnétisées et lavées plusieurs fois. Le conjugué d'isoluminol produit une réaction lumineuse lorsque les réactifs « déclencheurs » sont ajoutés dans la cuvette. Le système optique Bioflash mesure la lumière produite par cette réaction en unités relatives de lumière (RLU). Les valeurs de RLU sont proportionnelles à la quantité de conjugué d'isoluminol lié, qui lui-même est proportionnel à la quantité d'Ac anti-FR liés aux FR sur les billes.

Le logiciel calcule automatiquement les unités internationales (UI/mL) à partir des valeurs RLU obtenues pour chaque échantillon, en comparaison aux courbes de calibration définies à partir du standard de l'OMS.



Figure 6 - Automate Bioflash (à partir de <https://www.werfen.com/fr/fr/bio-flashr>)

### 2.2.2.2. Immunodosage par émission de fluorescence

Le test par automate Phadia utilise un dosage immunoenzymatique automatisé avec émission de fluorescence (Elia).

Les supports sont revêtus avec des IgG de lapin agrégées. Le sérum du patient est ensuite ajouté et le FR, s'il est présent, se lie aux IgG animales. Après élimination par lavage des Ac non liés, on ajoute des Ac dirigés contre les FR IgM marqués avec une enzyme pour former un complexe anticorps-conjugué. Après incubation, le conjugué non lié est éliminé par lavage et le complexe lié est incubé avec une solution de développement. Après l'arrêt de la réaction, on mesure la fluorescence du produit de la réaction. Plus la valeur de la réponse est élevée, plus il y a de FR IgM spécifiques présentes dans l'échantillon. La fluorescence émise lors du dosage des échantillons des patients est comparée avec la courbe de calibration du standard OMS pour obtenir un résultat en UI/mL.



Figure 7 - Automate Phadia 250 (d'après <https://www.thermofisher.com/phadia>)

### 2.2.2.3. Néphélémétrie

La néphélémétrie repose sur la capacité d'agrégation du FR.

Des particules de polystyrène sont recouvertes d'un complexe immunitaire constitué d'Ig humaines et d'Ac de mouton anti-IgG humaines. Ces complexes immunitaires vont former des agrégats lorsqu'ils sont mélangés avec des échantillons de sérums de patients contenant des FR. Ces agrégats diffusent un faisceau de lumière traversant l'échantillon. L'intensité de la lumière diffusée est proportionnelle à la concentration de FR de l'échantillon. Le résultat est évalué en comparaison avec un étalon de concentration connue.



Figure 8 - Néphélémètre  $BN^{TM}$  II (d'après <https://www.siemens-healthineers.com/fr/plasma-protein/systems/bn-ii-system>)

## 2.3. Autres éléments techniques

### 2.3.1. Expression des résultats

Les résultats sont exprimés en UI/mL par rapport au standard international de l'OMS W1066 défini initialement en 1970 à partir de sérums de patients atteints de PR. Il est désormais délivré par le National Institute for Biological Standard and Control (NIBSC). Sa concentration est de 25 UI/mL (47).

### 2.3.2. Valeur de référence

Pour chaque technique commerciale, un seuil de référence est défini par le fabricant. Pour la technique ELISA « maison », le seuil de positivité a été fixé à 10 UI/mL. Les seuils de positivité de chacune des techniques sont référencés dans le Tableau 5.

| Technique                | Seuil de positivité |
|--------------------------|---------------------|
| ELISA « maison » (UI/mL) | 10                  |
| Bioflash (UI/mL)         | 4,9                 |
| Phadia (UI/mL)           | 5                   |
| BN II (UI/mL)            | 16                  |
| iSYS (UI/mL)             | 23                  |

Tableau 5 - Seuil de positivité des différents tests, selon les notices des fabricants



### **2.3.3. Interférences**

Des interférences avec d'autres composants du sérum testé peuvent être à l'origine d'une perturbation de la réaction entraînant des résultats faussés.

Pour la technique Bioflash, les échantillons ayant subi une contamination microbienne, ou ayant été thermotraités, ou bien contenant des particules visibles, peuvent avoir des résultats faussés. Les échantillons contenant jusqu'à 1 mg/mL de bilirubine, 2 mg/mL d'hémoglobine, 1000 mg/dl de triglycérides, 332,5 mg/dL de cholestérol, 70 mg/mL d'IgG, 0,3 mg/L de prednisone, 9,1 mg/mL de méthotrexate ou 60,1 mg/mL d'acide ascorbique n'ont produit aucune interférence avec le test Bioflash.

Pour la technique Phadia, les échantillons lipémiques, hémolysés ou microbiologiquement contaminés peuvent donner de mauvais résultats et ne devraient pas être utilisés.

Pour le test néphélométrique BNII, il n'a été montré aucune interférence avec les sérums de patients pour des concentrations de bilirubine jusqu'à 0,6 g/L et d'hémoglobine libre jusqu'à 10 g/L.

La présence de particules dans les échantillons peut interférer avec la détermination. Par conséquent, les échantillons contenant des particules doivent être centrifugés avant le test.

## **2.4. Analyse des données**

### **2.4.1. Analyse statistique**

Les résultats des différents fournisseurs ont été extraits des automates en format .csv puis les interprétations ont été réalisées sur Excel (version 2020).

Les courbes ROC et les statistiques ont été réalisées sur le logiciel GraphPad.

Le calcul des index Kappa a été réalisé sur GraphPad en ligne : <https://www.graphpad.com/quickcalcs/kappa1/>

## 2.4.2. Calcul des performances diagnostiques

La sensibilité d'un test correspond à la probabilité que le test soit positif si la personne est atteinte de la maladie. C'est le nombre de vrais positifs sur le nombre total de personnes atteintes de la maladie.

La spécificité d'un test correspond à la probabilité que le test soit négatif si la personne est indemne de la maladie. C'est le nombre de vrais négatifs sur le nombre total de personnes indemnes de la maladie.

|              | Malade               | Non Malade           | Total                |
|--------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| Test positif | Vrai positif<br>(VP) | Faux positif<br>(FP) | Total tests positifs |
| Test négatif | Faux négatif<br>(FN) | Vrai négatif<br>(VN) | Total tests négatifs |
| Total        | Total malades        | Total non malades    | Effectif total       |

Tableau 6 - Tableau de contingence pour le calcul des performances diagnostiques des tests

Ainsi,

Sensibilité (Se) =  $VP / (VP + FN) = VP / \text{total malades}$

Spécificité (Spe) =  $VN / (VN + FP) = VN / \text{total non malades}$

## 2.4.3. Construction des courbes ROC

La courbe ROC (Receiver Operating Characteristic) correspond à une représentation graphique de la relation qui existe entre la sensibilité et la spécificité d'un test. Dans cette représentation, l'ordonnée représente la sensibilité et l'abscisse correspond à la quantité (1 - spécificité). Dans le cas d'un test parfait, la courbe ROC passe par le point de coordonnées (0 ; 1) ( $Sp = 1, Se = 1$ ), l'aire sous la courbe (Area Under the Curve ou AUC) associée est égale à 1. L'aire sous la courbe permet d'évaluer l'intérêt diagnostique d'un test.

On distingue les tests d'apport nul ( $AUC = 0,5$ ), peu informatifs ( $0,5 \leq AUC < 0,7$ ), moyennement informatifs ( $0,7 \leq AUC < 0,9$ ), très informatifs ( $0,9 \leq AUC < 1$ ) et parfaits ( $AUC = 1$ ).

#### 2.4.4. Index Kappa ou concordance clinique

L'index Kappa (K) permet de mesurer le niveau de concordance entre deux tests. Le Tableau 7 permet de définir cet index.

|        |         |         |         |       |
|--------|---------|---------|---------|-------|
|        |         | Test B  |         |       |
|        |         | Positif | Négatif |       |
| Test A | Positif | a       | b       | $n_1$ |
|        | Négatif | c       | d       | $n_2$ |
|        |         | $n_3$   | $n_4$   | N     |

Tableau 7 - Tableau de contingence pour le calcul de l'index kappa

Les résultats concordent lorsque les deux tests fournissent la même réponse : a (test A et B positifs) et d (tests A et B négatifs).

La proportion de réponses concordantes correspond à la somme de ces résultats concordants sur l'ensemble des résultats :  $P_o = (a+d) / N$ .

Toutefois, une partie de la concordance observée est liée au hasard. On parle de concordance aléatoire ( $P_c$ ). Elle correspond au rapport entre la somme des produits marginaux des résultats concordants et le carré du nombre total de résultats :  $P_c = (n_1 \cdot n_3 + n_2 \cdot n_4) / N^2$ .

L'index kappa quantifie le niveau de concordance réelle entre les résultats de 2 tests. Il est déterminé en tenant compte des deux paramètres précédents par la formule suivante :

$$K = (P_o - P_c) / (1 - P_c).$$

Plus K se rapproche de 1, plus la concordance des résultats est importante.

| <b>Index kappa</b>          | <b>Interprétation</b>  |
|-----------------------------|------------------------|
| < 0                         | Désaccord              |
| $0 \leq \kappa < 0,20$      | Accord très faible     |
| $0,21 \leq \kappa < 0,4$    | Accord faible          |
| $0,41 \leq \kappa < 0,6$    | Accord modéré          |
| $0,61 \leq \kappa \leq 0,8$ | Accord fort            |
| > 0,8                       | Accord presque parfait |

*Tableau 8 - Interprétation du degré d'accord entre deux techniques selon l'index Kappa*

### 3. Résultats

#### 3.1. Caractéristiques de la cohorte

Cette cohorte est constituée de 52 femmes (65%) et 28 hommes (35%). Leur répartition par tranche d'âge est représentée dans la Figure 7. On retrouve une prédominance féminine avec un âge médian à 60 ans.

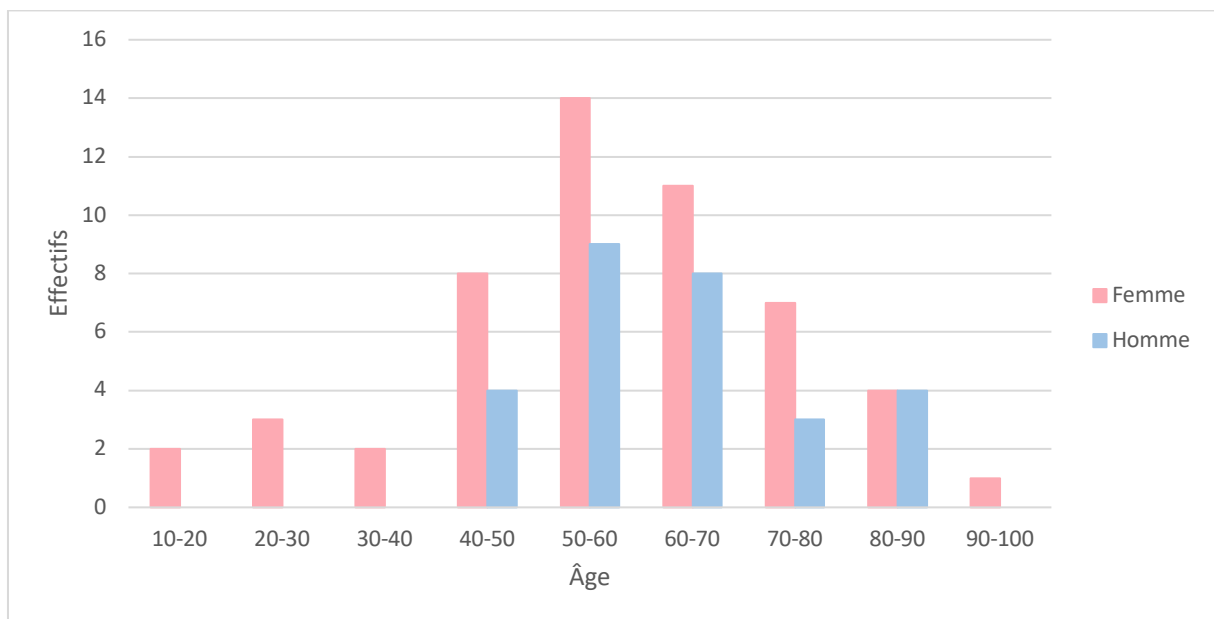


Figure 9 - Répartition des patients par classe d'âge

Concernant le motif de dosage des auto-Ac, 29 dosages (36,25%) ont été réalisés dans le cadre d'un bilan diagnostique, 10 (12,5%) dans le cadre d'une réévaluation diagnostique et 34 (42,5%) dans le cadre d'une réévaluation sous traitement et / ou d'un bilan d'activité.

### 3.2. Corrélation entre les tests

Nous avons analysé les corrélations entre les techniques de détection deux à deux (Tableau 9). Les corrélations ont été établies en fonction de la positivité ou non du FR établie à partir du seuil de positivité spécifique à chaque test sans tenir compte du taux de FR.

La corrélation entre les tests a d'abord été estimée par le taux de concordance des tests deux à deux.

|               | FR<br>« maison » | Bioflash | Phadia | BN | iSYS |
|---------------|------------------|----------|--------|----|------|
| FR « maison » |                  | 80       | 80     | 48 | 41   |
| Bioflash      |                  |          | 95     | 55 | 64   |
| Phadia        |                  |          |        | 68 | 45   |
| BN            |                  |          |        |    | 86   |
| iSYS          |                  |          |        |    |      |

Tableau 9 - Corrélations deux à deux des différentes méthodes de dosage du FR

Les techniques les mieux corrélées à l'ELISA « maison » sont les techniques par immunodosage, Bioflash et Phadia, avec un taux de concordance mesuré à 80% pour ces deux techniques. Les deux techniques les mieux corrélées entre elles sont les techniques Bioflash et Phadia.

Le coefficient Kappa a également été calculé afin d'estimer la concordance entre les tests Bioflash, Phadia, BN et iSYS par rapport à la technique ELISA « maison ». Les résultats sont représentés dans le Tableau 10.

|             | FR « maison »<br>/ Bioflash | FR « maison »<br>/ Phadia | FR « maison »<br>/ BN | FR « maison »<br>/ iSYS |
|-------------|-----------------------------|---------------------------|-----------------------|-------------------------|
| Kappa       | 0,451                       | 0,256                     | 0,15                  | 0,101                   |
| Concordance | Modérée                     | Faible                    | Très faible           | Très faible             |

Tableau 10 - Concordances entre les tests selon le coefficient Kappa

Nous avons également déterminé la sensibilité relative des tests pour la détection du FR en les comparant deux à deux. Pour ce faire, nous avons établi des tableaux de contingence comparant la détection du FR par les différentes techniques, deux à deux. Nous avons ainsi déterminé que la technique permettant de détecter les FR de manière la plus sensible est l'ELISA « maison » (FR positif chez 69 patients de notre cohorte).

Partant de ce constat, les techniques de détection les plus sensibles pour la détection du FR en utilisant l'ELISA « maison » comme référence, sont les techniques par immunodosage, Bioflash et Phadia, avec une sensibilité relative respectivement de 78% et 80%.

|               | FR<br>« maison » | Bioflash | Phadia | BN   | iSYS |
|---------------|------------------|----------|--------|------|------|
| FR « maison » |                  | 78       | 80     | 39   | 33   |
| Bioflash      |                  |          | 97,6   | 41,8 | 60   |
| Phadia        |                  |          |        | 50   | 33   |
| BN            |                  |          |        |      | 80   |
| iSYS          |                  |          |        |      |      |

*Tableau 11 - Sensibilités relatives deux à deux des différentes méthodes de dosage du FR*

### **3.3. Performances diagnostiques**

Les scores ACR/EULAR 2010 ont été calculés à partir des taux de FR mesurés par les différentes techniques de détection. Du fait d'une concordance relativement similaire entre les deux techniques néphélométriques, nous n'avons inclus dans ce calcul qu'une de ces deux techniques, à savoir la technique sur automate BN.

Pour le calcul des scores, la note de 0 a été attribuée aux items dont les données étaient manquantes dans les dossiers des patients, comme cela est précisé dans la publication originale concernant les critères de classification ACR/EULAR 2010 (23).

Pour le calcul des points, concernant l'item sérologie (FR et anti-CCP), les seuils de positivité des fabricants ont été utilisés. La valeur de 2 points a été attribuée lorsque le résultat était strictement supérieur au seuil de positivité et 3 points lorsque le résultat était strictement supérieur à trois fois le seuil de positivité.

### **3.3.1. Population des patients PR**

Dans un premier temps, nous avons calculé les scores ACR/EULAR 2010 des patients pour lesquels le diagnostic de PR a été posé par les spécialistes.

Dans cette population de patients, une nette prédominance féminine est observée, avec 20 femmes (80%) pour 5 hommes (20%). L'âge médian dans cette population de patients est de 64 ans.

Le nombre de patients PR répondant aux critères de classification ACR/EULAR 2010 est plus important lorsque le test ELISA « maison » a été utilisé dans le calcul du score par rapport aux trois autres méthodes de dosage. En effet, 15 patients PR (60%) sont identifiés comme tel avec le score ELISA « maison ».

Le test qui identifie le moins bien les patients PR selon les critères de classification ACR/EULAR 2010 est la technique néphélométrique BN (11 patients sur 25).



| Patient | Score hors immunologie | Score FR « maison » | Score Bioflash | Score Phadia | Score BN | Motif du dosage              |
|---------|------------------------|---------------------|----------------|--------------|----------|------------------------------|
| 9169313 | 1                      | 3                   | 4              | 4            | 3        | Bilan dg.                    |
| 9160172 | 3                      | 5                   | 6              | 5            | 5        |                              |
| 9176813 | 4                      | 7                   | 7              | 7            | 7        |                              |
| 9164285 | 1                      | 3                   | 3              | 3            | 3        |                              |
| 9197850 | 4                      | 7                   | 4              | 4            | 7        |                              |
| 9196398 | 1                      | 3                   | 3              | 3            | 3        | Rééval. dg.                  |
| 9201595 | 4                      | 7                   | 6              | 4            | 4        |                              |
| 9192242 | 4                      | 7                   | 6              | 4            | 4        |                              |
| 9162234 | 2                      | 5                   | 2              | 2            | 4        |                              |
| 9158600 | 5                      | 8                   | 7              | 7            | 7        | Réévaluation sous traitement |
| 9194412 | 1                      | 4                   | 4              | 3            | 3        |                              |
| 9166401 | 1                      | 4                   | 4              | 4            | 3        |                              |
| 9173233 | 4                      | 7                   | 7              | 6            | 6        |                              |
| 9175085 | 7                      | 9                   | 9              | 9            | 9        |                              |
| 9198427 | 3                      | 5                   | 5              | 5            | 5        |                              |
| 9199960 | 4                      | 6                   | 6              | 6            | 6        |                              |
| 9159115 | 0                      | 2                   | 2              | 2            | 2        |                              |
| 9160063 | 4                      | 6                   | 6              | 6            | 6        |                              |
| 9190067 | 4                      | 6                   | 6              | 6            | 6        |                              |
| 9197620 | 4                      | 7                   | 7              | 7            | 6        |                              |
| 9190722 | 7                      | 10                  | 10             | 10           | 9        |                              |
| 9181647 | 4                      | 7                   | 6              | 6            | 6        |                              |
| 9197240 | 2                      | 5                   | 5              | 4            | 2        |                              |
| 9163394 | 4                      | 7                   | 7              | 7            | 4        |                              |
| 9164981 | 4                      | 6                   | 4              | 4            | 4        |                              |

Score hors immunologie calculé à partir du nombre d'articulations atteintes (articulations gonflées et / ou douloureuses) ; de la présence des marqueurs de l'inflammation (CRP et / ou VS) ; de la durée d'évolution des symptômes

Score  $\geq 6$  définissant les patients PR selon les critères de classification ACR/EULAR 2010 (en rouge) (23)

Bilan dg. : bilan diagnostique ; Rééval. dg. : réévaluation diagnostique

Tableau 12 - Scores ACR/EULAR 2010 calculés à partir des valeurs de FR mesurées par les quatre tests dans la population de patients PR

### 3.3.2. Population des patients non PR

Le Tableau 13 représente les scores ACR/EULAR 2010 des patients non PR calculés à partir des valeurs de FR mesurées par les différentes méthodes de dosage.

| Patient | Score hors immunologie | Score FR « maison » | Score Bioflash | Score Phadia | Score BN | Diagnostic           | Motif dosage       |
|---------|------------------------|---------------------|----------------|--------------|----------|----------------------|--------------------|
| 9157596 | 5                      | 8                   | 8              | 8            | 7        | Sarcoïdose           | Bilan diagnostique |
| 9199596 | 2                      | 4                   | 5              | 4            | 4        | Sclérodermie         |                    |
| 9158915 | 1                      | 4                   | 3              | 3            | 3        | RIC inclassé         |                    |
| 9179896 | 2                      | 4                   | 5              | 4            | 4        | Arthrose             |                    |
| 9185775 | 3                      | 5                   | 5              | 5            | 5        | PPR                  |                    |
| 9187306 | 4                      | 7                   | 6              | 6            | 6        | Arthrose             |                    |
| 9190624 | 1                      | 3                   | 3              | 3            | 3        | Arthrose             |                    |
| 9157678 | 2                      | 4                   | 4              | 4            | 4        | PPR                  |                    |
| 9177110 | 3                      | 5                   | 5              | 5            | 5        | Arthropathie MC      |                    |
| 9197397 | 3                      | 6                   | 6              | 6            | 5        | Sd de G-S            |                    |
| 9160209 | 1                      | 4                   | 4              | 4            | 3        | Rhum. pso.           |                    |
| 9165044 | 2                      | 5                   | 5              | 5            | 4        | Arthropathie MC      |                    |
| 9177456 | 2                      | 5                   | 5              | 4            | 4        | Lupus avec sd de G-S |                    |
| 9170953 | 3                      | 6                   | 6              | 6            | 5        | Rhum. pso.           |                    |
| 9161564 | 5                      | 8                   | 8              | 7            | 5        | RIC inclassé         |                    |
| 9198307 | 7                      | 10                  | 9              | 9            | 7        | Spondyloarthrite     |                    |
| 9197646 | 1                      | 4                   | 3              | 1            | 3        | Sd de G-S            |                    |
| 9177768 | 7                      | 10                  | 7              | 7            | 7        | Vascularite (PAN)    |                    |
| 9159508 | 3                      | 6                   | 3              | 3            | 3        | Spondyloarthrite     |                    |
| 9191332 | 2                      | 5                   | 2              | 2            | 2        | Arthrose             |                    |
| 9197380 | 3                      | 6                   | 3              | 3            | 3        | Arthralgies NE       |                    |
| 9162741 | 5                      | 7                   | 7              | 7            | 7        | RIC inclassé         | Rééval. dg.        |
| 9161941 | 2                      | 4                   | 4              | 4            | 4        | Spondyloarthrite     |                    |
| 9169403 | 1                      | 4                   | 4              | 4            | 1        | Sd de G-S            |                    |
| 9175089 | 6                      | 9                   | 8              | 6            | 8        | Sd de G-S            |                    |

| Patient | Score hors immunologie | Score FR « maison » | Score Bioflash | Score Phadia | Score BN | Diagnostic         | Motif dosage                                    |
|---------|------------------------|---------------------|----------------|--------------|----------|--------------------|---|
| 9194685 | 2                      | 4                   | 4              | 4            | 4        | Rhum. pso.         | Réévaluation sous traitement / Bilan d'activité |
| 9160344 | 2                      | 4                   | 4              | 4            | 4        | PPR                |   |
| 915964  | 1                      | 3                   | 3              | 3            | 3        | Spondyloarthrite   |   |
| 9199358 | 1                      | 4                   | 3              | 3            | 3        | RIC inclassé       |   |
| 9169891 | 2                      | 5                   | 5              | 4            | 4        | Sclérodermie       |   |
| 9172125 | 2                      | 5                   | 4              | 4            | 4        | Rhum. pso.         |   |
| 9192157 | 0                      | 3                   | 3              | 2            | 2        | Vascularite (ANCA) |   |
| 9196591 | 3                      | 6                   | 6              | 5            | 5        | Connectivite mixte |   |
| 9180503 | 4                      | 7                   | 7              | 7            | 4        | Sclérodermie       |   |
| 9159096 | 0                      | 3                   | 3              | 2            | 0        | Rhum. pso.         |   |
| 9197616 | 1                      | 4                   | 4              | 4            | 1        | Spondyloarthrite   |   |
| 9173571 | 4                      | 7                   | 6              | 7            | 4        | Vascularite        |   |
| 9199845 | 0                      | 2                   | 3              | 2            | 0        | Vascularite (ANCA) |   |
| 9181240 | 2                      | 5                   | 5              | 2            | 4        | Connectivite mixte |   |
| 9158739 | 0                      | 3                   | 0              | 0            | 3        | Spondyloarthrite   |   |
| 9187484 | 2                      | 5                   | 2              | 2            | 0        | LED                |   |
| 9190020 | 2                      | 5                   | 2              | 2            | 4        | Sd de G-S          |   |
| 9171133 | 0                      | 2                   | 2              | 2            | 2        | ACG                | Non renseigné                                   |
| 9200646 | 1                      | 4                   | 3              | 4            | 3        | HVE                |   |
| 9174084 | 1                      | 4                   | 3              | 3            | 1        | ACG                |   |

Score hors immunologie calculé à partir du nombre d'articulations atteintes (articulations gonflées et / ou douloureuses) ; de la présence des marqueurs de l'inflammation (CRP et / ou VS) ; de la durée d'évolution des symptômes

Score  $\geq 6$  définissant les patients PR selon les critères de classification ACR/EULAR 2010 (en rouge) (23)

Rééval. dg. : réévaluation diagnostique

ACG : arthrite à cellules géantes ; Arthralgies NE : arthralgies non étiquetées ; Arthropathie MC : arthropathie microcristalline ; HVE : hyperostose vertébrale engainante ; LED : lupus érythémateux disséminé ; PAN : périartérite noueuse ; PPR : pseudo-polyarthrite rhizomélisque ; Rhum. pso. : rhumatisme psoriasique ; RIC : rhumatisme inflammatoire chronique ;

Sd de G-S : syndrome de Gougerot-Sjörgen

Tableau 13 - Scores ACR/EULAR 2010 calculés à partir des valeurs de FR mesurées par les quatre tests dans la population de patients non PR

Dans cette population, les principaux diagnostics représentés sont les spondyloarthrites (autres que le rhumatisme psoriasique) correspondant à 13,3% des patients, suivis du rhumatisme psoriasique et du syndrome de Gougerot-Sjörger (11,1%).

Nous observons que l'ELISA « maison » a classé dans la catégorie PR plus de patients à tort que les trois autres techniques de détection. En effet, 14 patients non PR (faux positifs) répondent aux critères de classification ACR/EULAR avec le test ELISA « maison » tandis qu'ils ne sont que 12 avec le test Bioflash, 11 avec le test Phadia et 6 avec le test BN.

### 3.3.3. Récapitulatif des performances diagnostiques des tests

Le Tableau 14 résume les performances diagnostiques des quatre méthodes de dosage du FR.

|        | FR « maison » | Bioflash | Phadia | BN |
|--------|---------------|----------|--------|----|
| Se (%) | 60            | 56       | 44     | 44 |
| Sp (%) | 69            | 73       | 75     | 87 |

Tableau 14 - Performances diagnostiques des quatre méthodes de dosage du FR

Le test ELISA « maison » présente la meilleure sensibilité, estimée à 60% mais aux dépens d'une moins bonne spécificité (69%) par rapport aux trois autres techniques.

### 3.4. Courbes ROC

Les courbes ROC (Figure 10) permettent de déterminer la capacité d'un test à discriminer les sujets atteints de la maladie des sujets non atteints.

L'analyse de ces courbes nous permet de déterminer que le test le plus discriminant est l'ELISA « maison ».

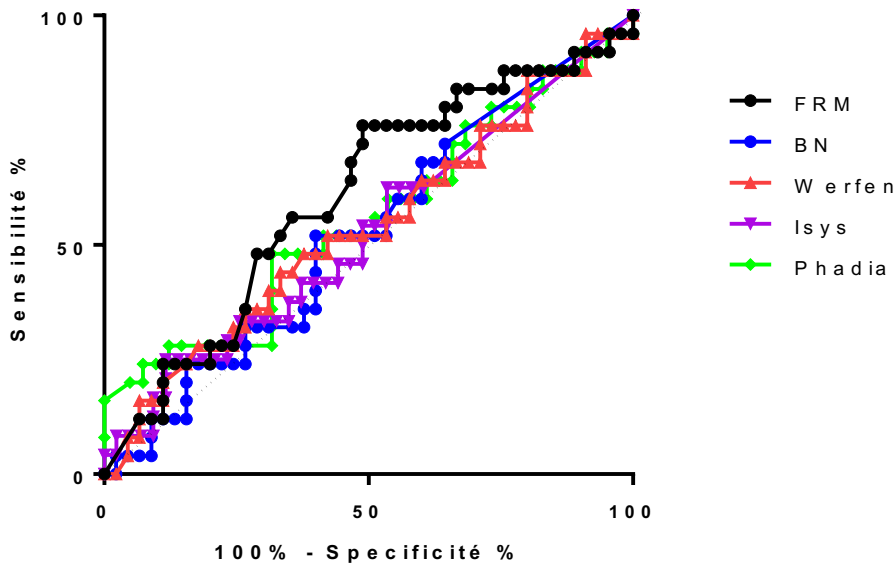


Figure 10 - Courbes ROC définies pour chaque test

### 3.5. Analyse d'un sous-groupe de patients : dosage effectué dans le cadre d'un bilan diagnostique

Nous avons analysé isolément un sous-groupe de patients, ceux pour lesquels le dosage du FR a été réalisé dans le cadre d'un bilan diagnostique.

La grande majorité de ces patients (tous sauf 1) sont naïfs de traitement par DMARD. Les DMARD sont susceptibles de modifier le taux des auto-Ac et notamment de faire décroître les FR chez les patients traités. L'analyse de ces patients permet donc de limiter ce facteur confondant dans le dosage du FR.

Dans ce sous-groupe, 40% des patients PR sont classés comme tel avec les techniques ELISA « maison », Bioflash et BN. Seule la technique Phadia n'identifie que 20% des patients PR.

Le fait le plus intéressant à relever dans ce sous-groupe de patients est que 80,95% des patients non PR sont étiquetés comme tel par la technique néphélométrique BN alors que ce taux n'atteint que 57,14% avec l'ELISA « maison ».

### 3.6. Analyse des discordances

L'analyse des cas discordants est très importante en pratique afin de guider le choix de la technique. En effet, il est nécessaire de limiter le nombre de faux positifs et de faux négatifs afin que l'utilisation du test apporte une aide dans la pratique clinique.

Nous avons défini 3 situations de concordance analytique :

- les cas pour lesquels l'ensemble des quatre techniques apportent une interprétation brute du résultat (positif ou négatif) identique, n : 23 (34,3%) ;
- les cas pour lesquels une seule technique apporte un résultat discordant par rapport aux trois autres, n : 36 (53,7%) ;
- les cas pour lesquels 50% des résultats sont discordants, n : 8 (11,9%).

Le Tableau 15 représente la répartition des cas discordants d'une seule technique et la nature du résultat obtenu pour le test discordant.

|                                 | FR « maison »                           | Bioflash      | Phadia                       | BN                 |
|---------------------------------|---|---------------|------------------------------|--------------------|
| Nombre de résultats discordants | 11 (tous positifs dont 5 à taux élevés) | 1 (1 positif) | 4 (2 négatifs et 2 positifs) | 20 (tous négatifs) |

Tableau 15 - Répartition des résultats discordants pour une seule technique

Il est intéressant de noter que pour 3 cas discordants avec la technique ELISA « maison », le résultat du test a eu un impact sur la classification des patients en permettant l'identification d'un patient PR (1 vrai positif) et en classant à tort en tant que PR de 2 patients non PR (2 faux positifs).

L'analyse des discordances avec le test néphélométrique BN a, quant à elle, révélé qu'un patient PR n'a pas été identifié (1 faux négatif) tandis que 3 patients non PR ont été classés comme tel (3 vrais négatifs).

Les cas pour lesquels 50% des résultats sont discordants n'ont pas fait l'objet d'analyse spécifique car pour tous ces patients, au moins un des tests rend un résultat proche du seuil de positivité (correspondant à la plage des résultats équivoques).

## **4. Discussion**

### **4.1. Interprétation des résultats**

#### **4.1.1. Hétérogénéité dans les mesures de FR entre les techniques**

La fiabilité et l'harmonisation des techniques de détection des auto-anticorps sont des caractéristiques essentielles. Toutefois, ces questions portent encore à débat.

La variabilité intrinsèque des analytes et des réactifs ainsi que l'hétérogénéité des techniques sont les principales raisons des écarts dans les variations inter-laboratoires et dans la communication des résultats des tests. Pour surmonter ces problèmes, la standardisation des tests d'auto-anticorps nécessite des efforts sur tous les aspects, y compris la définition de l'analyte, les étapes pré-analytiques, la méthode d'étalonnage et le rendu des résultats.

C'est dans ce sens, qu'ont été développés des standards de référence appropriés afin de permettre l'étalonnage et le contrôle de qualité des différents tests (48).

Dans le cas du FR, ce matériel de référence est obtenu à partir de sérums de plusieurs patients atteints de PR (47). La grande majorité des laboratoires ont désormais adopté ce matériel de référence afin de calibrer leur technique de détection du FR.

Malgré l'utilisation de ce matériel de référence, des variabilités dans les mesures du FR peuvent être observés entre les différentes méthodes de dosage.

Ces variabilités sont liées à l'hétérogénéité des auto-anticorps présents entre les individus ainsi qu'au sein d'un même individu, chez qui la réponse immunitaire polyclonale peut aboutir à des anticorps différents de par leurs isotypes, les épitopes cibles, l'affinité avec la cible.

Elles proviennent également des différences intrinsèques des méthodes de dosage et notamment du type d'Ag cibles (IgG humaines ou animales dans le cadre du FR), des supports utilisés, de la composition des réactifs ainsi que du temps d'incubation (48,49).

Dans notre étude, nous avons effectivement montré des discordances dans le dosage du FR entre les différentes techniques que nous avons testées, les techniques les mieux corrélées entre elles étant les techniques par immunodosage sur automates Bioflash et Phadia. L'ELISA « maison », quant à elle, est la technique qui détecte de manière la plus sensible les FR dans notre population.

#### **4.1.2. Analyse des performances diagnostiques des méthodes comparées**

Dans la population générale de notre étude, la technique ELISA « maison » a présenté une plus grande sensibilité (60%) par rapport aux autres techniques évaluées aux dépens toutefois d'une plus faible spécificité (69%). Ces résultats sont probablement en lien avec le fait que l'ELISA « maison » détecte de manière plus sensible le FR ce qui pourrait s'expliquer par les caractéristiques techniques de ce test. Dans la technique ELISA « maison », la durée d'incubation est bien plus longue (8 heures minimum) par rapport aux autres techniques de détection. Cela pourrait permettre de détecter de manière plus sensible les FR de faible affinité présents dans les sérums des patients. Il en résulte un nombre de tests positifs plus élevés au sein de la population PR mais également chez les patients non PR. En effet, comme nous l'avons vu précédemment, les FR ne sont pas spécifiques de la PR et la plupart des patients non PR inclus dans notre étude sont atteints de maladies dans lesquelles les FR peuvent être également présents (syndrome de Gougerot-Sjörger, sclérodémie systémique, rhumatisme psoriasique) (29). De plus, il a été démontré que les FR de faible affinité seraient plutôt impliqués dans la réponse immunitaire normale à de nombreux agents infectieux (notamment le virus d'Epstein-Barr) chez des sujets sains, en contraste avec les FR de forte affinité représentant, quant à eux, une signature humorale auto-immune chez des patients atteints de PR notamment (29,50).

Il est tout de même intéressant de noter que dans le sous-groupe de patients dont le dosage a été réalisé dans le cadre d'un bilan diagnostique, la quasi-totalité des patients PR (tous sauf 1) ont été testés positifs pour le FR avec la technique ELISA « maison ». Le seul patient PR pour qui le dosage de FR est négatif avec l'ELISA « maison » dans ce sous-groupe, a également été testé négatif avec les autres techniques de détection. Toutefois, cela n'a pas eu d'impact dans la classification de ce patient qui présente un taux fort d'anti-CCP lui permettant de remplir les critères ACR/EULAR 2010.



L'analyse des cas discordants a mis en évidence des différences dans la classification des patients en PR ou non PR entre les techniques ce qui pourrait avoir un impact en pratique clinique dans la prise en charge des patients. Toutefois, ces différences ont été limitées par le fait que les FR et les anti-CCP contribuent à part égale dans le calcul du score ACR/EULAR. Ainsi, chez les patients anti-CCP+, les discordances dans la mesure du FR ne se sont pas forcément traduites par des variations du score ACR/EULAR.

#### **4.2. Comparaison avec les données de la littérature**

Notre étude a montré une hétérogénéité dans la mesure du FR entre les différentes méthodes de dosage évaluées. Ces variations peuvent avoir un impact dans la classification des patients selon les critères ACR/EULAR 2010. Ces données sont concordantes avec plusieurs études dans la littérature.

Ainsi, van der Linden et al. dans leur étude visant à évaluer l'intérêt du dosage du titre des FR dans le diagnostic de la PR ont mis en évidence de grandes variations dans la mesure du FR entre les techniques par néphélométrie, turbidimétrie et ELISA. Dans leur étude, les techniques retrouvant les taux de FR les plus élevés sont la néphélométrie et la turbidimétrie, ce qui contraste avec nos résultats où la technique ELISA « maison » est plus sensible pour détecter le FR (51).

Une étude menée au centre hospitalier d'Auckland a également révélé des différences significatives dans la mesure du FR en comparant deux méthodes de détection, une par néphélométrie et une autre par turbidimétrie. Ces variations de mesure sont apparues d'autant plus importantes pour des taux de FR élevés. Dans cette étude, les auteurs ont également observé que la technique par néphélométrie évaluée ne permettait pas de quantifier les FR lors de l'analyse d'une dilution du sérum de référence de l'OMS à 10UI/mL contrairement à la technique par turbidimétrie (52).

Enfin, une autre étude plus récente comparant les performances techniques et diagnostiques de différentes méthodes de dosage de FR et d'ACPA (6 tests de FR et 7 tests d'ACPA) a également retrouvé des résultats similaires. Dans cette étude, il a été montré que la technique ELISA d'Euroimmun présente la meilleure sensibilité (60%) mais aux dépens d'une plus faible spécificité (71,6%) dans la PR.

La technique Elia sur automate Phadia que nous avons utilisée dans notre étude a également été évaluée dans cette étude, retrouvant une sensibilité à 40% pour une spécificité à 94,4% (46).

Toutes ces études tendent à montrer qu'il existe un manque d'harmonisation du dosage du FR en termes de valeurs numériques et de performances diagnostiques (sensibilité, spécificité). Ces différences de performances diagnostiques peuvent avoir un impact sur la classification des patients selon les critères ACR/EULAR 2010.

#### **4.3. Critères de classification ACR/EULAR 2010 versus critères diagnostiques**

Dans notre étude, nous avons comparé l'impact du dosage du FR par différents tests sur les critères de la PR définis par l'ACR et l'EULAR en 2010.

Il est important de rappeler que ces critères ont été développés en tant que critères de classification afin notamment d'homogénéiser les caractéristiques des patients inclus dans les études cliniques. Ils sont en principe réservés aux patients chez lesquels un diagnostic a déjà été porté et doivent avoir une spécificité élevée afin que les sujets non malades ne soient pas inclus.

Les critères diagnostiques ont, quant à eux, pour but d'aider le clinicien à porter un diagnostic au niveau individuel, chez un patient donné. La prévalence de la maladie a alors une importance puisqu'elle influence les valeurs prédictives de ces critères.

Les critères de classification ne sont pas performants au niveau individuel pour porter un diagnostic dans une population où la prévalence de la maladie est faible. En effet, la valeur prédictive positive (VPP) diminue du fait d'une augmentation des faux-positifs. Dans cette situation, l'utilisation des critères de classification en tant que critères diagnostiques expose à un risque d'erreur diagnostique.

Les études ayant évalué les critères ACR/EULAR 2010 retrouvent globalement de bonnes VPP, aux environs de 80% (27). Il faut cependant signaler que toutes les VPP présentées dans ces études proviennent de cohortes de patients atteints d'arthrites récentes au sein desquelles la prévalence de PR est par conséquent élevée. Dans des situations avec une prévalence plus faible de PR, par exemple dans des cabinets de médecins généralistes, les VPP des critères seraient plus faibles ce qui conduirait à un risque d'erreur diagnostique (53).

Les critères ACR/EULAR 2010 sont une aide précieuse au diagnostic précoce de PR mais ne doivent pas remplacer, lors des décisions thérapeutiques, d'autres facteurs tels que les facteurs pronostiques et le jugement du clinicien.

Ainsi, l'impact de nos résultats dans la pratique clinique sont à relativiser à la lumière de ces informations.

#### **4.4. Limites de l'étude**

Le premier point est inhérent au caractère rétrospectif de notre étude, nous exposant à des biais de mesure. En effet, les informations nécessaires au calcul du score ACR/EULAR étaient parfois incomplètes ou absentes. Cela nous a imposé d'exclure un certain nombre de patients de notre étude lorsque les données manquantes étaient trop nombreuses pour nous permettre d'interpréter les dossiers.

Le faible effectif de notre population limite l'extrapolation de nos résultats à la population générale. Nous avons en effet été limités dans le nombre d'échantillons évalués, d'une part par la disponibilité des tests comparés, fournies par les laboratoires et d'autre part par le volume des échantillons disponibles au sein des sérothèques, chaque échantillon nécessitant d'être évalué par cinq tests différents.

Le fait que nous nous soyons principalement intéressés aux variations de mesure pour les faibles taux de FR peut également constituer un biais de sélection.

Néanmoins, ce choix a été guidé par la volonté d'évaluer plus particulièrement l'impact de la détection du FR dans la prise en charge des patients.

Un autre point à soulever est que nous n'avons pas tenu compte du niveau d'imprécision des résultats (résultats équivoques) fourni par certains laboratoires. En effet, nous avons considéré les résultats des tests comme étant positifs uniquement lorsqu'ils étaient strictement supérieurs au seuil de positivité défini par les laboratoires. Ce choix a néanmoins été guidé par la volonté de correspondre au plus près à ce qui est réalisé en pratique courante, où les résultats équivoques ne sont généralement pas pris en compte.

Enfin, nous n'avons pas pu évaluer certaines méthodes de détection du FR telle que la turbidimétrie.

# Conclusion

Le diagnostic précoce de la PR représente un enjeu majeur dans la prise en charge des patients tant la mise en route rapide d'un traitement efficace permet de modifier radicalement l'évolution de la maladie.

L'apport de l'immunologie constitue un atout précieux pour orienter le diagnostic chez les patients présentant un tableau d'arthrite indifférenciée débutant.

Bien que de nouveaux biomarqueurs aient été mis en évidence au cours des dernières années, les FR et les ACPA restent les seuls auto-Ac inclus dans les critères de classification ACR/EULAR et sont ceux recherchés actuellement en pratique courante. Depuis leur découverte, de nombreuses méthodes de dosage ont été développées. Malgré la création de standards de référence notamment par l'OMS afin de calibrer les dosages du FR, la réponse immunitaire polyclonale, la diversité des auto-anticorps produits, et les différences propres aux méthodes de dosage peuvent être à l'origine de réponse hétérogène entre les tests.

Notre étude a ainsi montré des variations dans la mesure du FR ainsi que des différences de performances diagnostiques entre les techniques de détection, l'ELISA « maison » étant celle ayant montré la sensibilité la plus élevée mais aux dépens d'une plus faible spécificité.

Malgré les différences observées, certaines techniques présentent des performances diagnostiques relativement discriminantes, telle que la technique sur automate Bioflash. Des études complémentaires seraient intéressantes pour affiner ces observations.

Notre étude rejoint les résultats des données de la littérature et souligne le fait que des efforts doivent être fournis pour permettre une meilleure harmonisation entre les techniques afin de permettre une utilisation appropriée des tests de laboratoire dans le but d'aboutir à une meilleure prise en charge des patients.

# Bibliographie

1. Short CL. The antiquity of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1974;17(3):193-205.
2. Prete M, Racanelli V, Digiglio L, Vacca A, Dammacco F, Perosa F. Extra-articular manifestations of rheumatoid arthritis: An update. *Autoimmun Rev.* déc 2011;11(2):123-31.
3. Alamanos Y, Voulgari PV, Drosos AA. Incidence and prevalence of rheumatoid arthritis, based on the 1987 American College of Rheumatology criteria: a systematic review. *Semin Arthritis Rheum.* déc 2006;36(3):182-8.
4. Silman AJ, Pearson JE. Epidemiology and genetics of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res.* 2002;4 Suppl 3:S265-272.
5. Aletaha D, Smolen JS. Diagnosis and Management of Rheumatoid Arthritis: A Review. *JAMA.* 2 oct 2018;320(13):1360-72.
6. Frisell T, Holmqvist M, Källberg H, Klareskog L, Alfredsson L, Askling J. Familial risks and heritability of rheumatoid arthritis: role of rheumatoid factor/anti-citrullinated protein antibody status, number and type of affected relatives, sex, and age. *Arthritis Rheum.* nov 2013;65(11):2773-82.
7. Viatte S, Barton A. Genetics of rheumatoid arthritis susceptibility, severity, and treatment response. *Semin Immunopathol.* 2017;39(4):395-408.
8. Viatte S, Plant D, Han B, Fu B, Yarwood A, Thomson W, et al. Association of HLA-DRB1 haplotypes with rheumatoid arthritis severity, mortality, and treatment response. *JAMA.* 28 avr 2015;313(16):1645-56.
9. McInnes IB, Schett G. The pathogenesis of rheumatoid arthritis. *N Engl J Med.* 8 déc 2011;365(23):2205-19.
10. Richez C, Barnetche T, Schaeffer T, Truchetet M-E. La polyarthrite rhumatoïde : une physiopathologie mieux connue ? *Rev Rhum Monogr* [Internet]. 2017 [cité 11 nov 2020];84. Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/article/1187595/la-polyarthrite-rhumatoide -une-physiopathologie->

11. Källberg H, Ding B, Padyukov L, Bengtsson C, Rönnelid J, Klareskog L, et al. Smoking is a major preventable risk factor for rheumatoid arthritis: estimations of risks after various exposures to cigarette smoke. *Ann Rheum Dis.* mars 2011;70(3):508-11.
12. Catrina AI, Ytterberg AJ, Reynisdottir G, Malmström V, Klareskog L. Lungs, joints and immunity against citrullinated proteins in rheumatoid arthritis. *Nat Rev Rheumatol.* nov 2014;10(11):645-53.
13. Stolt P, Yahya A, Bengtsson C, Källberg H, Rönnelid J, Lundberg I, et al. Silica exposure among male current smokers is associated with a high risk of developing ACPA-positive rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* juin 2010;69(6):1072-6.
14. Honda K, Littman DR. The microbiome in infectious disease and inflammation. *Annu Rev Immunol.* 2012;30:759-95.
15. Wegner N, Wait R, Sroka A, Eick S, Nguyen K-A, Lundberg K, et al. Peptidylarginine deiminase from *Porphyromonas gingivalis* citrullinates human fibrinogen and  $\alpha$ -enolase: implications for autoimmunity in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* sept 2010;62(9):2662-72.
16. König MF, Abusleme L, Reinholdt J, Palmer RJ, Teles RP, Sampson K, et al. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*-induced hypercitrullination links periodontal infection to autoimmunity in rheumatoid arthritis. *Sci Transl Med.* 14 2016;8(369):369ra176.
17. Zhang X, Zhang D, Jia H, Feng Q, Wang D, Liang D, et al. The oral and gut microbiomes are perturbed in rheumatoid arthritis and partly normalized after treatment. *Nat Med.* août 2015;21(8):895-905.
18. Hughes GC, Choubey D. Modulation of autoimmune rheumatic diseases by oestrogen and progesterone. *Nat Rev Rheumatol.* déc 2014;10(12):740-51.
19. Alpízar-Rodríguez D, Pluchino N, Canny G, Gabay C, Finckh A. The role of female hormonal factors in the development of rheumatoid arthritis. *Rheumatol Oxf Engl.* 01 2017;56(8):1254-63.
20. Smolen JS, Aletaha D, Barton A, Burmester GR, Emery P, Firestein GS, et al. Rheumatoid arthritis. *Nat Rev Dis Primer.* 08 2018;4:18001.
21. Smolen JS, Aletaha D, McInnes IB. Rheumatoid arthritis. *The Lancet.* oct 2016;388(10055):2023-38.

22. Daien C, Hua C, Gaujoux-Viala C, Cantagrel A, Dubremetz M, Dougados M, et al. Actualisation des Recommandations de la Société française de rhumatologie pour la prise en charge de la polyarthrite rhumatoïde. *Rev Rhum.* janv 2019;86(1):8-24.
23. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO, et al. 2010 Rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum.* sept 2010;62(9):2569-81.
24. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ, Fries JF, Cooper NS, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* mars 1988;31(3):315-24.
25. van der Heijde D, van der Helm-van Mil AHM, Aletaha D, Bingham CO, Burmester GR, Dougados M, et al. EULAR definition of erosive disease in light of the 2010 ACR/EULAR rheumatoid arthritis classification criteria. *Ann Rheum Dis.* avr 2013;72(4):479-81.
26. Hua C, Combe B. Les nouveaux critères de classification ACR/EULAR 2010 pour un diagnostic plus précoce de la polyarthrite rhumatoïde. *Rev Rhum Monogr.* sept 2017;84(4):337-42.
27. Hua C, Daien CI, Combe B, Landewe R. Diagnosis, prognosis and classification of early arthritis: results of a systematic review informing the 2016 update of the EULAR recommendations for the management of early arthritis. *RMD Open.* janv 2017;3(1):e000406.
28. Radner H, Neogi T, Smolen JS, Aletaha D. Performance of the 2010 ACR/EULAR classification criteria for rheumatoid arthritis: a systematic literature review. *Ann Rheum Dis.* janv 2014;73(1):114-23.
29. Ingegnoli F, Castelli R, Gualtierotti R. Rheumatoid factors: clinical applications. *Dis Markers.* 2013;35(6):727-34.
30. Song YW, Kang EH. Autoantibodies in rheumatoid arthritis: rheumatoid factors and anticitrullinated protein antibodies. *QJM Mon J Assoc Physicians.* mars 2010;103(3):139-46.

31. De Rycke L, Peene I, Hoffman IEA, Kruithof E, Union A, Meheus L, et al. Rheumatoid factor and anticitrullinated protein antibodies in rheumatoid arthritis: diagnostic value, associations with radiological progression rate, and extra-articular manifestations. *Ann Rheum Dis.* déc 2004;63(12):1587-93.
32. Böhler C, Radner H, Smolen JS, Aletaha D. Serological changes in the course of traditional and biological disease modifying therapy of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* févr 2013;72(2):241-4.
33. Haute Autorité de santé. Recommandations professionnelle – Poly- arthrite rhumatoïde – Synthèse des recommandations. [https://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/polyarthrite\\_rhumatoide\\_-\\_synthese\\_de\\_lensemble\\_des\\_recommandations.pdf](https://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/polyarthrite_rhumatoide_-_synthese_de_lensemble_des_recommandations.pdf). 2017.
34. Biomnis. Facteurs rhumatoïdes [Internet]. Disponible sur: [https://www.eurofins-biomnis.com/referentiel/liendoc/precis/FACTEURS\\_RHUMATOIDES.pdf](https://www.eurofins-biomnis.com/referentiel/liendoc/precis/FACTEURS_RHUMATOIDES.pdf)
35. Club Rhumatismes et Inflammation. Les auto-antigènes et les auto-anticorps [Internet]. Disponible sur: <http://www.cri-net.com> Chapitre 12
36. Schellekens GA, de Jong BA, van den Hoogen FH, van de Putte LB, van Venrooij WJ. Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *J Clin Invest.* 1 janv 1998;101(1):273-81.
37. van Venrooij WJ, van Beers JJBC, Pruijn GJM. Anti-CCP antibodies: the past, the present and the future. *Nat Rev Rheumatol.* 7 juin 2011;7(7):391-8.
38. Combe B, Landewe R, Daien CI, Hua C, Aletaha D, Álvaro-Gracia JM, et al. 2016 update of the EULAR recommendations for the management of early arthritis. *Ann Rheum Dis.* juin 2017;76(6):948-59.
39. Aggarwal R, Liao K, Nair R, Ringold S, Costenbader KH. Anti-Citrullinated Peptide Antibody (ACPA) Assays and their Role in the Diagnosis of Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheum.* 15 nov 2009;61(11):1472-83.
40. Demoruelle MK, Parish MC, Derber LA, Kolfenbach JR, Hughes-Austin JM, Weisman MH, et al. Performance of anti-cyclic citrullinated Peptide assays differs in subjects at increased risk of rheumatoid arthritis and subjects with established disease. *Arthritis Rheum.* sept 2013;65(9):2243-52.



41. Mydel P, Wang Z, Brisslert M, Hellvard A, Dahlberg LE, Hazen SL, et al. Carbamylation-dependent activation of T cells: a novel mechanism in the pathogenesis of autoimmune arthritis. *J Immunol Baltim Md 1950*. 15 juin 2010;184(12):6882-90.
42. Regueiro C, Nuño L, Ortiz AM, Peiteado D, Villalba A, Pascual-Salcedo D, et al. Value of Measuring Anti-Carbamylated Protein Antibodies for Classification on Early Arthritis Patients. *Sci Rep [Internet]*. 20 sept 2017 [cité 11 nov 2020];7. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5607236/>
43. Felson DT, Smolen JS, Wells G, Zhang B, van Tuyl LHD, Funovits J, et al. American College of Rheumatology/European League against Rheumatism provisional definition of remission in rheumatoid arthritis for clinical trials. *Ann Rheum Dis*. mars 2011;70(3):404-13.
44. Smolen JS, Breedveld FC, Burmester GR, Bykerk V, Dougados M, Emery P, et al. Treating rheumatoid arthritis to target: 2014 update of the recommendations of an international task force. *Ann Rheum Dis*. janv 2016;75(1):3-15.
45. Smolen JS, Landewé RBM, Bijlsma JWJ, Burmester GR, Dougados M, Kerschbaumer A, et al. EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2019 update. *Ann Rheum Dis*. 2020;79(6):685-99.
46. Van Hoovels L, Jacobs J, Vander Cruyssen B, Van den Breemt S, Verschueren P, Bossuyt X. Performance characteristics of rheumatoid factor and anti-cyclic citrullinated peptide antibody assays may impact ACR/EULAR classification of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2018;77(5):667-77.
47. National Institute for Biological Standards and Control. WHO Reference Reagent Rheumatoid Arthritis Serum,. :10.
48. Meroni PL, Biggioggero M, Pierangeli SS, Sheldon J, Zegers I, Borghi MO. Standardization of autoantibody testing: a paradigm for serology in rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol*. janv 2014;10(1):35-43.
49. Sheldon J, Dellavance A. Strategies for Building Reference Standards for Autoantibodies. *Front Immunol [Internet]*. 29 avr 2015 [cité 28 nov 2020];6. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4413817/>
50. Dörner T, Egerer K, Feist E, Burmester GR. Rheumatoid factor revisited. *Curr Opin Rheumatol*. mai 2004;16(3):246-53.

51. van der Linden MPM, Batstra MR, Bakker-Jonges LE, Foundation for Quality Medical Laboratory Diagnostics, Detert J, Bastian H, et al. Toward a data-driven evaluation of the 2010 American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism criteria for rheumatoid arthritis: is it sensible to look at levels of rheumatoid factor? *Arthritis Rheum.* mai 2011;63(5):1190-9.
52. Ameratunga R, Musaad S, Sugrue C, Kyle C. Rheumatoid factor measurement--continuing problems 70 years after discovery. *Clin Rheumatol.* sept 2011;30(9):1215-20.
53. Mil AHM van der H, Huizinga TWJ. The 2010 ACR/EULAR criteria for rheumatoid arthritis: do they affect the classification or diagnosis of rheumatoid arthritis? *Ann Rheum Dis.* 1 oct 2012;71(10):1596-8.

« Par délibération de son Conseil en date du 10 Novembre 1972, l'Université n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses ou mémoires. Ces opinions doivent être considérées comme propres à leurs auteurs ».

VU, le Président de Thèse

VU, le Doyen de la Faculté

VU et permis d'imprimer  
en référence à la délibération  
du Conseil d'Université  
en date du 14 Décembre 1973

Pour le Président  
de l'Université de CAEN et P.O

Le Doyen

ANNEE DE SOUTENANCE :2020

NOM ET PRENOM DE L'AUTEUR : ISHAC Luca

TITRE DE LA THESE : Polyarthrite rhumatoïde et facteur rhumatoïde : comparaison de méthodes de dosage immunologiques

RESUME DE LA THESE EN FRANÇAIS :

L'un des enjeux actuels dans la prise en charge de la polyarthrite rhumatoïde est de poser le diagnostic le plus tôt possible. C'est dans ce sens qu'ont été développés les critères de classification ACR/EULAR 2010. La sérologie et notamment les facteurs rhumatoïdes occupent une place importante dans ces critères. Malgré l'existence de standard international utilisé afin de calibrer les dosages du facteur rhumatoïde, la réponse immunitaire polyclonale, la diversité des auto-anticorps produits, et les différences propres aux méthodes de dosage peuvent être à l'origine de réponse hétérogène entre les tests chez un même patient. A partir d'une population de patients pour lesquels un dosage de facteur rhumatoïde et d'anticorps anti-peptides citrullinés a été réalisé au CHU de Caen entre 2015 et 2017, nous avons comparé les capacités de détection de différentes techniques de dosage du facteur rhumatoïde dont un test ELISA « maison » et leur performance diagnostique dans la polyarthrite rhumatoïde. Les résultats de notre étude ont mis en évidence des différences de concordances entre les techniques de détection évaluées, les techniques les mieux corrélées entre elles étant les techniques par immunodosage. Des variations dans les performances diagnostiques de ces techniques ont également été observées, la technique ELISA « maison » étant celle présentant la plus forte sensibilité (60%) mais aux dépens d'une plus faible spécificité (69%). Malgré les différences observées, certaines techniques présentent des performances diagnostiques relativement discriminantes, telle que le Bioflash. Des études complémentaires seraient intéressantes pour affiner ces observations.

MOTS CLES : Polyarthrite rhumatoïde ; Facteur rhumatoïde ; Diagnostic ; Comparaison de méthodes

TITRE DE LA THESE EN ANGLAIS :Rheumatoid arthritis and rheumatoid factor : comparasion of different immunological assays

RESUME DE LA THESE EN ANGLAIS :

One of the main issues in the management of rheumatoid arthritis is to set up the diagnosis at an early stage of the disease. The ACR/EULAR 2010 criteria were developped for that purpose. The weight of autoantibodies and in particular rheumatoid factor is important in those criteria. Despite the existence of international standard used to calibrate rheumatoid factor assays, the polyclonal immune response, the diversity of autoantibodies produced, and the intrinsic differences between assays can lead to a heterogenous reponse between assays in the same patient sample. Through a population for whom rheumatoid factor and anti-citrullinated protein antibodies assays were performed at Caen University Hospital between 2015 and 2017, we compared the detection capacities of different rheumatoid factor assays including an « in-house » ELISA and their diagnostic performances in rheumatoid arthritis. The results of our study revealed differences in agreement between the different tests, the best agreement being observed between the immunoassays. Variations in the diagnostic performances were also observed, the « in-house » ELISA being the one with the highest sensitivity (60%) but at the expense of lowest specificity (69%). Despite those differences, some assays showed relevant diagnostic performances, such as Bioflash. Additional studies would be of interest to confirm those observations.

KEY WORDS : Rheumatoid arthritis ; Rheumatoid factor ; Diagnosis ; Comparaison of methods