

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA

RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLEB –BLIDA 1-



Faculté de Médecine
Département de Pharmacie

**Le profil sérologique et inflammatoire des patients atteints
de la polyarthrite rhumatoïde.**

Mémoire de fin d'études

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Docteur en Pharmacie

Session: Juin 2014

Présenté par :

-Guicheniti Ryma

-Hamaidi Naoual

-Radji Imane

Promoteur : -BOUDJELLA Mohammed Lotfi Maitre assistant en Immunologie CHU-Blida.

Président de jury :

-MEGHLAOUI Ali Professeur en Immunologie. Chef d'unité d'Immunologie CHU-Blida

Membres de jury :

-BOUCHEDOUB Youcef Maitre Assistant en Immunologie. Unité d'immunologie. CHU-Blida.

-ZELTNI Mohamed Lyes Assistant en Immunologie. Unité d'immunologie. CHU-Blida.

REMERCIEMENT:

Avant tout, nous devons remercier Dieu le tout puissant qui nous a permis de mener à terme ce modeste travail.

Nous tenons en premier, à remercier Dr BOUDJELLA M.L, Maître assistant en Immunologie à l'Unité Hospitalo-Universitaire Hassiba Ben Bouali de Blida, de nous avoir encadré pendant la réalisation de ce travail, pour ses conseils, sa patience et son soutien : qu'il reçoit l'expression de nos remerciements les plus sincères.

Nos vifs remerciements vont également à M. MEGHLAOUI.A, Professeur Chef d'unité d'Immunologie à l'unité hospitalo-universitaire Hassiba Ben Bouali de Blida, qui nous a honoré en acceptant tout d'abord l'accès à l'unité et aussi de présider le jury , ainsi qu'aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Nous tenons à remercier tout particulièrement nos parents ainsi que nos frères et sœurs qui nous ont accordé la liberté d'action et la patience nécessaire pour réaliser ce travail sans eux, nous n'en serons pas là.

Sans oublier tout le personnel du laboratoire des unités d'Immunologie et d'hémobiologie de l'unité hospitalo-universitaire Hassiba Ben Bouali de Blida qui a sans doute été d'une aide considérable durant la réalisation de ce travail.

Enfin. Nous remercions toutes les personnes, tous les professionnels qui ont contribué de près et de loin à l'enrichissement de notre travail et à notre épanouissement intellectuel.

Dédicace

À la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ; maman que j'adore.

À l'homme de ma vie, mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, que dieu te garde dans son vaste paradis, à toi mon père.

À mes deux chères sœurs : Soumia et Aïcha, à mon unique et seul frère : Maamar, je dédie ce travail dont le grand plaisir leurs revient en premier lieu pour leurs conseils, aides, et encouragements.

Je dédie ce travail aussi à mes grands parents, mes tantes, mes oncles, mes cousins et cousines ainsi qu'à toute la famille.

À la mémoire de mon grand père paternel, que dieu le préserve dans son paradis.

Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient toujours à mes côtés, et qui m'ont accompagnaient durant mon chemin d'études supérieures, mes aimables amis, collègues d'étude et sœurs de cœur.

Guicheniti Ryma

Dédicace :

Merci Allah (Mon dieu) de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve.

A celle qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, à ma chère mère que j'adore.

A mon père, école de mon enfance, qui a été ombre durant toutes les années des études, et qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager, à me donner l'aide et à me protéger.

A mes très chers frères : Badreddine et Mohamed qui ont toujours été là pour moi, que dieu les garde et les protège.

A ma grand-mère qui m'a soutenu avec ses « Douaa »

A mes tantes et oncles.

A chaque cousin et cousine.

A mes meilleurs amis.

A tous ceux qui me sont chers.

A tous ceux qui m'aiment.

A tous ceux que j'aime.

Je dédie ce modeste travail.

Hamadi Naoual

Dédicace:

Je dédie ce travail:

À ma très chère et douce mère

Autant de phrases aussi expressives scient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi.

Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études, tu as toujours été présente à mes côtés pour me consoler quand il fallait.

En ce jour mémorable, pour moi ainsi que pour toi, reçoit ce travail en signe de ma vive reconnaissance et mon profond estime.

Puisse Dieu, le tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et bonheur.

À mon très chère père

Autant de phrases et d'expressions aussi éloquents soit-elles ne sauraient exprimer ma gratitude et ma reconnaissance.

Que Dieu le tout puissant te préserve, t'accorde santé, bonheur, quiétude de l'esprit et te protège de tout mal.

À mes très chères sœurs Amina et Lydia

Pour toute la complicité et l'entente qui nous unissent, ce travail est un témoignage de mon attachement et de mon amour.

À mon chère grand-père maternel

Que Dieu te préserve santé et longue vie.

À toute ma famille, en particulier mes tantes, mes oncles ainsi que mes cousins et cousines.

À tous mes amis et mes collègues d'étude.

À la mémoire de mes deux grand-mères.

À la mémoire de mon grand-père paternel.

Radjji Imane

Table de matières

Abréviation

Introduction	1
I. Rappel bibliographique sur la polyarthrite rhumatoïde	3
1. Définitions.....	3
2. Epidémiologie	4
3. Physiopathologie	5
3.1. Facteurs favorisants.....	6
3.2. Mécanisme physiopathologique.....	8
3.2.1. Initiation de la réponse inflammatoire en périphérie.....	9
3.2.2. Développement de l'inflammation dans l'articulation.....	9
3.2.3. La destruction cartilagineuse.....	13
4. Clinique	14
5. Diagnostic	23
5.1. Examen radiographique.....	25
5.2. Bilans biologiques sanguins.....	26
5.2.1. Bilan inflammatoire.....	26
- Vitesse de sédimentation (VS).....	26
- Numération formule sanguine (NFS).....	27
- Protéine C réactive (CRP).....	28
5.2.2. Bilan immunologique.....	28
5.2.2.1. Recherche des Facteurs rhumatoïdes (FR)	28
- Par la réaction de Waaler rose.....	29
- Par le test au latex.....	29
- Par la Néphélométrie Laser.....	29

-Par le test ELISA.....	30
5.2.2.2. Recherche des Anticorps anti-peptides cycliques citrullinés.....	32
5.2.2.3. Recherche des anticorps anti-facteurs nucléaires (FAN).....	34
5.2.2.4. Autres auto-anticorps décrits au cours de la PR.....	36
5.3. Examen du liquide synovial.....	37
6. Diagnostic différentiel.....	37
7. Le traitement.....	42
II. Objectifs.....	47
III. Partie pratique	48
1. Matériels et méthodes.....	49
1.1. Matériel.....	49
-Le matériel biologique (Les prélèvements)	49
-Le matériel non biologique	50
1.2. Méthodes.....	52
- Bilan inflammatoire.....	52
- Bilan immunologique.....	53
2. Résultats et discussion.....	55
Conclusion.....	68
References bibliographiques.....	69
Annexes.....	75
Résumé et mots clé.....	106

Liste des tableaux :

Tableau 1	Articulations atteintes dans de la PR.
Tableau 2	Critère de classification de la PR selon l'ACR.
Tableau 3	Nouveaux critères de l'ACR/EULAR de la polyarthrite rhumatoïde (2010).
Tableau 4	Les valeurs normales de la VS selon Sox.
Tableau 5	Présence de FR dans des situations autres que la PR.
Tableau 6	Situations au cours desquelles peuvent être observés des FAN.
Tableau 7	Principales molécules utilisées dans le traitement de fond de la PR.
Tableau 8	Principales biothérapies utilisées dans la PR.
Tableau 9	Sensibilité et spécificité des méthodes de dosage du FR.
Tableau 10	VPP et VPN du FR.
Tableau 11	Sensibilité et spécificité du test ELISA pour la recherche des anticorps Anti-CCP.

Liste des figures :

Figure 1	Comparaison entre une articulation saine et une articulation atteinte de PR.
Figure 2	Interaction et coopération entre LT et LB dans la PR.
Figure 3	Schéma général de la physiopathologie dans la PR.
Figure 4	Photo des deux mains d'un malade présentant une synovite des carpes et des IPP.
Figure 5,6	Photos des malades souffrants de déviation « en coup de vent cubital » des doigts.
Figure 7	Schéma d'un Hallux valgus.
Figure 8	Photo d'un malade présentant des nodules rhumatoïdes au cours de la PR.
Figure 9	Radiographie du thorax d'un patient souffrant de PR démontrant un infiltrat réticulaire prédominant aux bases.
Figure 10	Photo chez un malade présentant un syndrome sec.

Figure 11	Radiographie des deux mains mettant en évidence la localisation des lésions, la bilatéralité, l'éventuelle symétrie.
Figure 12	Schéma de la citrullination de l'arginine.
Figure 13	Schéma de la composition d'un néphélomètre a laser.
Figure 14	Répartition des patients selon l'âge.
Figure 15	Répartition des patients selon le sexe
Figure 16	Répartition des patients selon les valeurs de la VS.
Figure 17	Répartition des patients selon les valeurs de la CRP obtenues par la laser néphélémétrie.
Figure 18	Répartition des patients selon les valeurs du FR obtenues par la laser néphélémétrie.
Figure 19	Répartition selon les valeurs du FR obtenues par les techniques : Agglutination (Latex, Waaler rose) et la laser néphélémétrie.
Figure 20	Répartition des patients selon les valeurs obtenues en anticorps Anti-CCP.
Figure 21	Répartition des patients selon les facteurs anti-nucléaires (FAN).
Figure 22	Répartition des patients selon le score DAS 28-VS.
Figure 23	Répartition des patients selon le score DAS28 –CRP.
Figure 24	Répartition des patients selon score DAS28-Anti-CCP.
Figure 25	Répartition des patients selon le score DAS28-FR
Figure 26	Répartition des patients selon le score FR-Anti-CCP.
Figure 27	Comparaison de l'Anti-CCP chez les malades et les témoins.
Figure 28	Comparaison des taux du FR chez les malades et les témoins.

Liste des symboles (Abréviations) :

Acs : Anticorps
ACCP : Anticorps anti-peptide cyclique citrulliné
ACR: American College of Rheumatology
AFA: Anticorps anti-fillagrine
Ag: Antigène
AINS: Anti-inflammatoire non stéroïdien.
AKA: Anticorps anti-Kératine
ANCA : anticorps anti-cytoplasme des granulocytes.
Anti-Carp: Anti-protéine Carbamylée
BAFF : B-cell activation factor
BCR: B-Cell Receptor (ou récepteur des lymphocytes B)
B-Gal: Beta-Galactosidase
CCMH : Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine
CCP : protéine cyclique citrullinée.
CMH: Complexe Majeur d'Histocompatibilité
CPA : Cellule Présentatrice d'Antigène
CRP: Protéine C réactive
DAMPs : damage-associated molecular patterns
DAS : disease activity score
ELISA: Acronyme de *Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay*
EULAR: European League Against Rheumatism
FAN: Anticorps anti-facteurs nucléaires
Fc: Fragment cristalisable de l'immunoglobuline
FR: Facteur rhumatoïde
Fox P3: forkhead box P3
GB : Globules blancs
GR : Globules rouges
GPI: Anti-glucose-6-phosphatase isomérase
HB : Hémoglobine.
HLA: Human Leucocyte Antigen
HRP: Peroxydase de Raifort
IFI: Immunofluorescence indirecte
IFN : interféron.
Ig: Immunoglobuline
IL: Interleukine
IPD: Interphalangiennes distales.
IPP: Interphalangiennes proximales
IRF: interferon regulatory factor
LB: Lymphocyte B
LT: Lymphocyte T
Luc: Luciférase

MAI : Maladie auto immune
MCP: Métacarpophalangiennne
MMPs :métalloprotéinases
MNSA: Myeloide nuclear differentiation antigen
MTOC: Anti-major microtubule organizing center
MTP: Métatarsophalgienne
NF- κ B : nuclear factor Kb
NFS: Formule de numération sanguine
OMS: Organisation mondiale de la santé
PAD: peptidylarginine deiminase
PAL: Phosphatase alcaline
PCR : Polymerase chain reaction
PGE2 : Prostaglandine E2
PNB : Polynucléaires basophiles
PNE : Polynucléaires éosinophiles
PNN : polynucléaires neutrophiles
PPR : Pseudopolyarthrite rhizomelique
PR : polyarthrite rhumatoïde
PTPN22 :tyrosine phosphate non-receptor type 22
RANKL : receptor activator of NF- κ B ligand
RS3PE : remitting seronegativesymetrical synovitis with pitting edema
TGF β : transforming growth factor β
TGMH : Teneur globulaire moyenne en hemoglobine
TH : T helper
TLR : toll like receptor
TNF α : tumor necrosis factor α
T reg : T régulateur
UI : Unité internationale
VGM : Volume globulaire moyen
VPN : Valeur prédictive négative
VPP : Valeur prédictive positive
VS: Vitesse de sédimentation
ZAP-70 :z-associated protein of 70 kDa

Introduction

Introduction :

La polyarthrite rhumatoïde (PR) est une maladie chronique, inflammatoire et auto-immune, qui affecte principalement les petites et moyennes articulations, pouvant conduire à des destructions articulaires, mais qui peut se caractériser également par des manifestations systémiques (nodules, vascularite, sérosite, par exemple).

Elle est actuellement définie selon les critères de l'ACR (anciennement ARA), revus en 1987, intégrant des paramètres cliniques, biologiques et radiologiques. (6)

C'est le plus fréquent des rhumatismes inflammatoires chroniques de l'adulte et sa prévalence est en perpétuelle croissance. D'après une étude faite par une équipe médicale de Tlemcen, la PR est une pathologie qui reste de loin la plus fréquente en Algérie, son incidence étant estimée à 4500 nouveaux cas par an, touchant beaucoup plus le sexe féminin, avec un sex-ratio de 4. (119)

La PR est une entité hétérogène, avec un pronostic très variable, allant d'une forme légère, non destructrice, incluant même des cas de rémissions, à des formes très agressives et destructrices, pouvant conduire à des degrés élevés d'invalidité et de mortalité. Les deux premières années d'évolution étant décisives pour le devenir du patient (90) (30) avec apparition de 90% des érosions radiologiques durant ce laps de temps (33) (71) , Les traitements de la PR associent souvent plusieurs médicaments, pouvant cependant s'accompagner d'effets secondaires importants (82) (53) . Ainsi, seuls les malades dont l'atteinte sera potentiellement sévère devront bénéficier de ce type de prise en charge, en raison non seulement des effets secondaires de ces traitements, mais également de leur coût, en particulier en ce qui concerne les nouveaux agents biologiques (anti- TNFs). La difficulté majeure actuelle consiste donc à dépister précocement les formes sévères de la PR. (57)

L'incidence de la maladie, les multiples conséquences socioprofessionnelles pour le patient et son entourage, ainsi que les coûts engendrés pour la société, font de cette maladie un enjeu majeur de santé publique.

De nombreuses études ont démontré la valeur prédictive de l'Anti CCP dans la PR, ces Anticorps peuvent apparaître plusieurs mois avant le début des signes cliniques. (91)

Notre principal objectif est d'établir un profil sérologique et inflammatoire des malades atteints de la PR, ainsi que d'évaluer l'intérêt de ce profil dans le diagnostic et le suivi de la maladie.

I-Rappels bibliographiques

I-Rappels bibliographiques :

1-Définitions:

Il s'agit du rhumatisme inflammatoire de l'adulte le plus important par sa fréquence, environs 50 millions de sujets atteints dans le monde, et par sa gravité. (118)

La PR est classée dans les maladies auto-immunes dites systémiques ou non spécifiques d'organes. Les manifestations cliniques observées résultent d'une interaction multifactorielle relevant de facteurs hormonaux, environnementaux, génétiques et immunologiques. Les facteurs génétiques ne représentent que 30 % des facteurs favorisant la PR. C'est dire l'importance des facteurs environnementaux qui expliquent peut-être les différences de prévalence de la PR selon les pays. (20)

Dans la majorité des cas, la PR se présente comme un rhumatisme inflammatoire chronique caractérisé par :

- Cliniquement, des arthrites touchant les membres. Initialement l'atteinte distale est presque constante, de même que l'extension secondaire à d'autres articulations, avec une tendance nette à la symétrie des localisations. Les articulations sacro-iliaques et le rachis dorsolombaire sont respectés, mais la localisation au rachis cervical est fréquente.
- Histologiquement, on note la présence des synovites prolifératives « pannus synovial ». Elles sont agressives, provoquant des érosions osseuses et une dégradation des cartilages de conjugaison, conduisant à la déformation et la destruction progressive des articulations.
- Immunologiquement, les désordres auto-immuns sont à l'origine de la production des facteurs rhumatoïdes (immunoglobulines anti-IgG) et d'anticorps anti-protéines citrullinées, qui constituent des marqueurs sériques de la maladie, utiles au diagnostic et au pronostic. (11)

2-Epidémiologie :

La PR est la plus fréquente des maladies rhumatismales de l'adulte, elle entraîne des répercussions fonctionnelles, psychologiques, sociales et professionnelles parfois graves. (88)

Selon des études épidémiologiques, elle touche environ 0,3% à 1% de la population mondiale (118)

L'incidence annuelle varie entre 20 et 50 nouveaux cas/100,000 habitants par an selon les régions étudiées. Les femmes sont quatre fois plus touchées que les hommes, et la tranche d'âge la plus concernée se situe entre 35 et 55 ans. L'insuffisance de ressources en santé ne permet pas une évaluation précise dans les pays en développement. Les facteurs environnementaux et les facteurs génétiques sont responsables d'importantes variations dans la répartition de la maladie à travers le monde. (88)

En Algérie, l'incidence de la maladie n'a pas été clairement établie à cause du manque d'information et du diagnostic établi tardivement. D'après des études faites par une équipe médicale de Tlemcen, cette maladie touche près de 600 .000 personnes en Algérie, avec une incidence estimée à 4500 nouveaux cas par an (119)

En France 200 000 cas ont été estimés, soit environ 0,3% de la population. Cependant, elle apparaît le plus souvent entre 40 et 60ans, en période pré-ménopausée chez la femme. Les formes précoces survenant avant l'âge de 30 ans sont quatre fois plus fréquentes chez la femme enceinte. Après 60 ans, la fréquence est identique pour les deux sexes. (58) Une étude faite en 2009 intitulée EPIRHUM-2 suggère une faible prévalence de la polyarthrite rhumatoïde dans le Nord-Pas-de Calais (0,13%) par rapport à la prévalence nationale (0,31%) et dans les autres régions françaises, en particulier dans la région PACA (0,66%). Déjà, en 1995, une étude conduite au sein de la communauté urbaine de Lille suggérait une faible prévalence (0 ,172%) de la polyarthrite rhumatoïde dans le Nord de la France. La prévalence faible (0,19% en 2005) dans le Nord Pas de Calais est une singularité régionale par comparaison avec le sud de la France (gradient croissant Nord Sud Français) et à l'Europe du nord (gradient décroissant Nord Sud Européen). Au delà des facteurs étiopathogéniques environnementaux et génétiques habituellement rapportés, l'âge (population plus jeune) semble être le principal facteur susceptible d'expliquer cette singularité. La question d'une véritable inégalité régionale concernant la prévalence de la PR en France reste donc posée. (16)

3-Physiopathologie:

A l'état physiologique ; pour répondre à la diversité des antigènes, les régions variables des récepteurs des lymphocytes B et T sont générées par recombinaisons géniques. Ce processus étant aléatoire, il permet la production d'un très vaste répertoire de spécificités, à même de couvrir en théorie l'intégralité des antigènes rencontrés. Le revers de la médaille toutefois, réside dans la génération de cellules présentant une forte affinité pour les antigènes du soi.

Ces lymphocytes auto-réactifs pourraient, une fois en périphérie, s'activer et représenter une menace pour l'organisme. Il est donc indispensable soit de neutraliser directement ces cellules lors de leur génération, c'est la « tolérance centrale » qui s'effectue au niveau du thymus pour les lymphocytes T, ou au niveau de la moelle osseuse pour les lymphocytes B ; soit d'empêcher leur activation au niveau des organes lymphoïdes secondaires, c'est la « tolérance périphérique » ; ici on parle de **la tolérance au soi**. (68)

La tolérance immunitaire se définit par la capacité du système immunitaire à ne pas manifester de réaction agressive vis-à-vis de certains antigènes avec lesquels il a été au préalable en contact. Une tolérance immunitaire spécifique s'exerce vis-à-vis de constituants du soi. Les mécanismes de tolérance naturelle sont acquis au cours du développement, ils sont multiples et ont pour objectif de prévenir les réactions d'auto-immunité. (49)

Il faut distinguer l'auto-immunité de l'auto-réactivité. L'auto-réactivité est le phénomène naturel de reconnaissance du soi par les lymphocytes T ou B. Pour les LB, on possède des auto-anticorps naturels en dehors de toute maladie, sans risque de développer une maladie auto-immune ultérieurement. Pour les LT, il existe également un répertoire de LT réactifs capables de reconnaître des antigènes du soi. (108) Grâce au thymus, organe de développement et de maturation de LT naïfs, s'effectue l'éducation des LT à reconnaître le soi et le tolérer et reconnaître le non soi et l'éliminer.

En pathologie ; L'auto-immunité résulte d'un défaut dans la mise en place ou le maintien de la tolérance au soi. Les maladies auto-immunes surviennent quand la rupture de la tolérance au soi entraîne des lésions cellulaires ou tissulaires induites par des lymphocytes T et/ou des lymphocytes B produisant des auto-anticorps spécifiques d'auto-antigènes. (5)

Le modèle générale de développement des maladies auto-immune est basé sur un terrain génétique de prédisposition, un environnement adéquat, et à l'occasion d'un facteur déclenchant tel qu'une infection, une agression physique ou chimique, qui aboutit à une destruction tissulaire ou cellulaire puis à une inflammation locale. Il y a d'une part rupture de

tolérance car il y'a défaut de mécanismes immuno-régulateurs qui auraient normalement dû contrôler la période inflammatoire transitoire, et d'autre part possibilité de développer une maladie auto-immune. Celle-ci donne également lieu à une inflammation secondaire qui va avoir un rôle déterminant dans l'aggravation et la perpétuation du processus auto-immun ; c'est le cas de plusieurs maladies auto-immunes dont la PR qui associe un désordre inflammatoire à un autre auto-immun. La frontière identifiant l'inflammation et l'auto-immunité n'est pas toujours facile. (108)

3-1-Facteurs favorisant la maladie:

3-1-1- Facteurs génétiques :

La génétique est évidemment prédominante, certains gènes prédisposent à la maladie (il faut noter que la concordance chez des sœurs jumelles homozygotes n'est que de 13% contre 5% pour les dizygotes). Les gènes HLA DR1 et DR4 sont présents respectivement à 30% et 60%. L'association génétique la plus forte est observée avec les allèles des gènes codant pour les molécules HLA de classe II qui sont surtout exprimées à la membrane des cellules présentant l'antigène (CPA). (55) (90)

Dans les populations Européenne, Nord-Américaine et Nord-Africaine, la PR est souvent associée aux allèles (HLA DRB1*0401, HLA DRB1*0404, HLA DRB1*0101, DRB1*1402). (7) Nombre de ces allèles ont en commun une séquence d'acides aminés QKRAA, QRRAA ou RRAAA: Glutamine-Lysine- Arginine-Alanine-Alanine appelée « **épitope partagé** », qui pourrait être au cœur de la réaction auto-immune médiée par les LT. Bien d'autres gènes de susceptibilité à la PR ont été, soit confirmés, soit encore en attente de réplique sur une cohorte indépendante. Ils peuvent être classés selon la fonction de la protéine pour laquelle ils codent : signalisation intracellulaire/transduction, transcription, voies de co-stimulation et récepteurs membranaires. Nombre de ces gènes sont associés non seulement à la PR, mais également à d'autres maladies auto-immunes. (55)

3-1-2-Facteurs hormonaux :

Cette maladie est à nette prédominance féminine avec un sex-ratio d'un homme pour quatre femmes et survient souvent en période péri-ménopausique. Pendant la grossesse, le risque de développer une PR est faible, tandis que dans l'année qui suit le post-partum ce risque est nettement plus élevé. L'allaitement a été incriminé comme étant un facteur de risque, responsable de l'incidence plus élevée dans le post-partum. Cette implication des facteurs

hormonaux endogènes est soulignée par certaines études qui ont montré une hypo androgénie relative chez les femmes mais aussi chez les hommes atteints de PR, avec des taux de testostérone et de déhydroépiandrostérone (DHA) plus bas. Les hormones exogènes, que ce soit la pilule contraceptive ou le traitement hormonal substitutif, ne modifient pas l'incidence de la PR mais semblent retarder son début et sa sévérité. (15)

3-1-3-Facteurs environnementaux :

La ressemblance entre les symptômes de certaines arthrites d'origine virale et la PR ont amené les scientifiques à chercher une origine infectieuse à la PR. Le phénomène serait lié à la similitude de la structure moléculaire de certains antigènes infectieux avec des antigènes articulaires. Les agents infectieux pourraient donc induire un dysfonctionnement immunitaire et initier la maladie suivant un mécanisme de mimétisme moléculaire. Plusieurs virus et bactéries ont été incriminés comme *Mycobacterium tuberculosis*, *Escherichia coli*, le virus de l'hépatite C, le parovirus B19, le virus de la rubéole mais aussi et surtout le virus d'Epstein-Barr (ou EBV). (3)

L'HSP70 d'*E.coli* est reconnue par l'épitope partagé de la molécule HLA-DR. Les agents infectieux peuvent induire une réponse immunitaire innée par activation des toll like receptor (TLR).

D'autres facteurs environnementaux, comme le statut social, la vie urbaine par rapport au mode de vie rural, le régime alimentaire, les parodontopathies (dues à *Porphyromonas gingivalis*) ont été incriminés dans le déclenchement de la PR, mais sans que cela soit formellement prouvé. (55)

Parmi les facteurs environnementaux le tabac, une méta-analyse des données de la littérature scientifique publiée en 2010 met en évidence un risque relatif significativement supérieur de développer une PR chez les fumeurs et chez les ex-fumeurs par rapport aux patients non fumeurs. (75) Tout à fait logique, le risque augmente également avec le nombre de cigarettes fumées par jour et la durée du tabagisme. Il n'a pas été établi de seuil à partir duquel un risque accru devenait mesurable mais quoiqu'il en soit, tous s'accordent à dire que le risque de développer une PR demeure plus élevé chez les fumeurs ou ex-fumeurs pendant près de 20 ans après l'arrêt du tabagisme. (74) (24)

Il est également suggéré que le tabac soit responsable d'interactions avec les allèles HLA DRB1 codant pour l'épitope partagé et influence certaines réponses immunologiques. En effet, les fumeurs portant ces allèles de susceptibilité sont plus exposés à la maladie et présentent un risque supérieur de développer des anticorps anti-peptide cycliques citrullinés (anti-CCP) et des facteurs rhumatoïdes (FR). (10)

3-2-Mécanisme physiopathologique:

Le site principal de l'inflammation, est localisé au niveau de la membrane synoviale. Chez un sujet normal, la synoviale est une membrane qui délimite la cavité articulaire, elle se réfléchit sur les pièces osseuses en formant des récessus et s'insère à la limite de la transition os-revêtement cartilagineux. Elle sécrète le liquide synovial composé d'acide hyaluronique, qui a un rôle mécanique et nutritif. (22)

Des modifications anatomiques et histologiques sont constatées chez les malades atteints d'une PR avec la constitution d'un panus synovial suite a une hyperplasie liée a une prolifération de la couche bordante ,l'installation de l'angiogénèse vient pour favoriser la migration des LT CD4 mémoire dont l'accumulation forme des nodules lymphoïdes périvasculaires, une infiltration cellulaire avec les cellules de l'immunité innée et adaptative et enfin une destruction ostéo-cartilagineuse seront observées ainsi qu'un afflux très important de cellules qui ne sera pas contre balancé par l'apoptose.

De façon schématique, l'immunopathologie de la PR peut être divisée en 3 phases distinctes : une phase de déclenchement impliquant surtout l'immunité innée, une phase d'amplification caractérisée par une inflammation de la membrane synoviale impliquant plutôt l'immunité acquise, une phase de destruction articulaire secondaire à l'action de cytokines mais aussi à la prolifération pseudo-tumorale des synoviocytes par défaut d'apoptose, cette prolifération qui ressemble par certains aspects à celle des cellules cancéreuses constituant un pannus. (55)

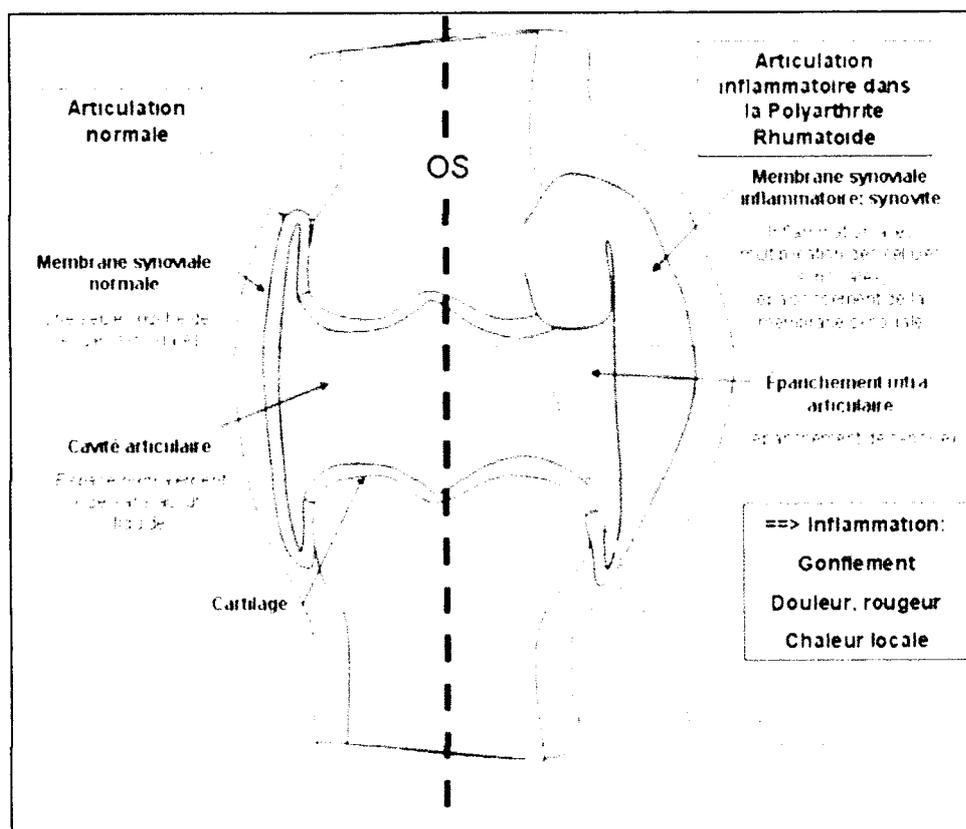


Figure 1: Comparaison entre une articulation saine et une articulation atteinte de PR. (94)

1-Initiation de la réponse immunitaire en périphérie :

Au niveau des organes lymphoïdes secondaires, les protéines citrullinées, reconnues comme non soi après avoir subi des modifications post transcriptionnelles par les peptidylarginine déiminase (PAD), sont captées par les CPA. Leur apprêtement et leur présentation aux lymphocytes sont facilités par la présence d'un épitope partagé au niveau de la chaîne β des molécules de classe II du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH). (27)

La CPA, devenue mature, active les lymphocytes T et B, entraînant la synthèse des anticorps anti-CCP et du facteur rhumatoïde. Ceci explique la présence de ces anticorps très tôt au cours de l'évolution de la maladie avant même les signes cliniques et permet un diagnostic précoce. Les anti-CCP circulent et vont se localiser au niveau de l'articulation où ils contribuent au déclenchement de l'inflammation. (46)

2-Développement de l'inflammation dans l'articulation :

2.1. Initiation de l'inflammation :

Sous l'influence de facteurs de l'environnement (Ultraviolets, médicaments, traumatismes et dérivés de l'oxygène), certains auto-antigènes (Collagène de type II, glycoprotéine 39 du cartilage, IgG, fibrine) (61) (45) subissent une modification post transcriptionnelle et

deviennent des néoantigènes. (38) Les anti-CCP, formés en périphérie, qui ont migré dans l'articulation, reconnaissent et se lient à ces néoantigènes par mimétisme formant des complexes immuns. (70)

Ces derniers, dont le fragment Fc de l'Ig est libre, se fixent sur le récepteur du fragment Fc des macrophages synoviaux et des polynucléaires neutrophiles (PNN). L'activation de ces cellules induit une transduction des signaux à travers un ensemble de tyrosines kinases et une sécrétion de cytokines TNF α (tumor necrosis factor α), IL1, IL6, de chimioattractants et de métalloprotéinases (MMPs). Ces cytokines stimulent l'angiogenèse. (8) (77) Ceci permet le recrutement des cellules immunitaires au niveau du site inflammatoire avec la formation de panus synovial : cellules dendritiques, macrophages, LT et LB. (66)

2.2. Activation des cellules de l'immunité innée :

Les cellules dendritiques, les macrophages et les synoviocytes sont activés par l'intermédiaire des récepteurs de l'immunité innée, les TLR qu'ils portent à leur surface. (81) L'activation de ces TLR, dans la PR, est déclenchée par la liaison avec leurs ligands endogènes appelés « damage-associated molecular patterns » (DAMPs) comme la protéine du choc thermique, l'ADN et l'ARN. (19) La liaison des TLR aux DAMPs entraîne une transduction du signal médiée par quatre protéines adaptatrices, relayées ensuite par plusieurs kinases et par trois facteurs de transcription : le « nuclear factor κ B » (NF- κ B), l'« activator protein 1 » (AP1) et l'« interferon regulatory factor » (IRF). Ces facteurs de transcription induisent la synthèse des interférons (IFN), du TNF α , des interleukines 1, 6, 10, 12 et de différentes chimiokines par les cellules dendritiques. L'activation des synoviocytes via leur TLR, aboutit à la synthèse de l'IL1, de l'IL6, de la prostaglandine PGE2 et des MMPs et celle des macrophages à l'IL1, l'IL6 et le TNF α . (29) (18)

La fixation des cytokines à leurs récepteurs au niveau des cellules cibles de l'articulation (macrophage, PNN, synoviocyte) déclenche une cascade de transduction du signal selon des voies de phosphorylation. Les cellules cibles ainsi activées synthétisent des cytokines, des facteurs de croissance et des MMPs et entretiennent par cette boucle l'inflammation. (9)

2.3. Activation des cellules de l'immunité adaptative :

L'activation des TLR permet aux cellules de l'immunité innée d'exercer pleinement leur fonction de CPA. La cellule capte les néoantigènes (CCP), générés au niveau de l'articulation, et les charge sur les molécules de classe II du CMH. Ce chargement des CCP est facilité par la présence de l'épitope partagé sur les molécules HLA DR. Le complexe CCP-CMH migre vers la membrane de la CPA pour être présenté aux lymphocytes TCD4. (67)

Activation des lymphocytes TCD4:

Le signal 1 d'activation des lymphocytes TCD4 naïfs est la liaison du complexe « récepteur T de l'antigène (TCR)- CD3 » des lymphocytes avec le complexe « molécule de classe II du CMH chargée des CCP ». Le signal 2 est donné par la liaison des molécules de costimulation exprimées sur la cellule dendritique (CD80/86, CD40) et leurs ligands respectifs sur le lymphocyte (CD28, CD40L). L'activation de ces molécules de surface du lymphocyte TCD4 aboutit à une transduction du signal à travers un ensemble de tyrosine kinase : Lck, Fyn, et « associated protein of 70 kDa » (ZAP70). Cette transduction du signal dans le lymphocyte TCD4 est entretenue et amplifiée dans la PR par l'existence d'un allèle de susceptibilité (620W) du gène « tyrosine phosphate non -receptor type 22 » (PTPN22) qui n'exerce pas l'inhibition régulatrice normale sur les tyrosines LCK, ZAP70 CD3 ζ (dzeta) et entretient l'activation des lymphocytes T. (31)

Après son activation, le lymphocyte TCD4 se différencie en l'une des trois sous-populations de T effecteurs (TH1, TH2, TH17) ou en T régulateur (Treg). (32) La PR était connue pour être une pathologie TH1 avec synthèse d'IFN γ et inhibition des lymphocytes TH2. Plusieurs éléments ont permis de changer ce concept ; le concept actuel de pathogénie de la PR est donc en faveur d'une balance TH17/Treg et non plus TH1/TH2. (17)

La différenciation du TCD4, en TH17 est induite par deux cytokines le « transforming growth factor β » TGF β et l'IL6. Le TH17 sécrète une cytokine pro-inflammatoire, l'IL17 (62) qui induit la sécrétion de différents facteurs selon les cellules : IL1, IL6, PGE2 et MMPs par les synoviocytes et les chondrocytes, IL1, IL6 et TNF α par les macrophages et l'expression de « receptor activator of NF- κ B ligand » (RANKL) sur les ostéoblastes. (34) (28) L'IL17 intervient ainsi dans le recrutement et l'activation des cellules immunitaires (monocytes et lymphocytes), dans l'angiogenèse, dans la prolifération et l'inflammation de la membrane synoviale, dans la résorption de l'os et dans la dégénérescence de la matrice extracellulaire. (50) Au cours de la PR, l'action suppressive des Treg sur l'activation et la prolifération des T effecteurs, des B et des cellules dendritiques est déficiente.

La présence d'un taux très élevé de TNF α inhibe Foxp3 et donc la sécrétion des cytokines anti-inflammatoires (TGF β , IL10), d'où un déséquilibre en faveur des cytokines pro-inflammatoires. (65)

Activation des lymphocytes B:

Leur contribution dans la pathogénie de la PR est prouvée à plusieurs niveaux : synthèse et sécrétion d'auto-anticorps et de cytokines. Les LB peuvent se comporter comme de véritables CPA en présentant les antigènes aux lymphocytes TCD4+. En effet, ils sont capables de

reconnaître des auto-antigènes via leurs récepteurs de type Ig (BCR). La formation de ce conjugué B-T permet au lymphocyte B d'avancer dans le cycle cellulaire, de se multiplier et de se différencier en plasmocyte sécréteur d'auto-anticorps. La prolifération clonale de ces lymphocytes B auto réactifs pourrait être favorisée par la cytokine BAFF= BlyS qui fait partie de la grande famille des TNF. Cette cytokine, interagit avec des récepteurs présents sur les lymphocytes B. Ces derniers produisent également certains auto-anticorps détectés dans la PR tels que les facteurs rhumatoïdes et les anticorps anti-peptides citrullinés. (66) (25)

Le FR n'a pas de rôle direct dans le développement de la synovite rhumatoïde. Une approche expérimentale montre que l'injection de FR ou de lymphocytes B producteurs de FR à des souris SCID n'induit pas d'arthrite chez ces animaux. Néanmoins les FR, en particulier IgG, pourraient jouer un rôle indirect dans l'inflammation synoviale en induisant la sécrétion des cytokines pro-inflammatoires, IL1 et TNF α par les macrophages synoviaux. Enfin, le FR est impliqué dans certaines manifestations extra-articulaires. Il se dépose dans la paroi des vaisseaux et forme des complexes immuns de taille intermédiaire, active le complément et induit des lésions de vascularite. Chez certains patients le FR sanguin a des propriétés de cryoprécipitation, ce qui explique certaines manifestations de vascularite. (20)

Une autre molécule importante sur le lymphocyte B est le CD20 exprimée sur les lymphocytes pré B et les B matures. La molécule CD20, présente dans les radeaux lipidiques de la membrane cellulaire, interviendrait après activation du récepteur B de l'antigène (BCR), en tant que canal calcique dans de nombreuses voies de signalisation mises en jeu dans la prolifération, l'activation, la différenciation et l'apoptose du lymphocyte B. (72)

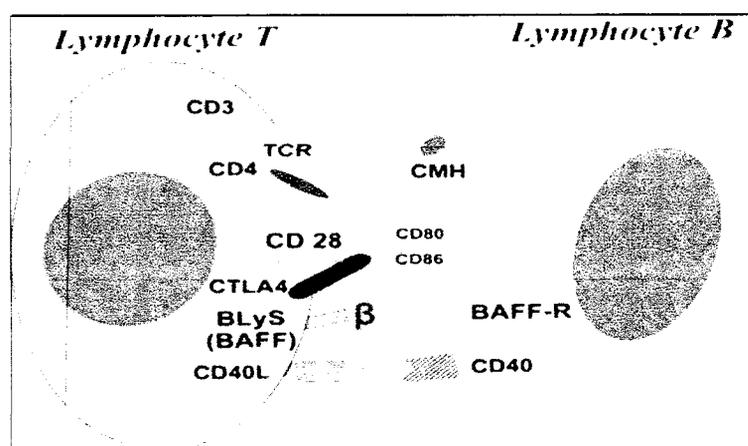


Figure 2: Interaction et coopération entre LT et LB dans la PR. (36)

3- La destruction cartilagineuse:

La destruction ostéo-articulaire est la conséquence de la prolifération pseudo-tumorale de la synoviale et de l'action des cytokines. La nette réduction des destructions articulaires chez les patients traités pour leur PR par des antagonistes de l'IL6 et du TNF α démontre clairement le rôle structural de ces cytokines dans cette maladie. Les cytokines pro-inflammatoires participent à cette destruction articulaire en induisant non seulement la synthèse de facteurs de croissance nécessaires à la prolifération de la synoviale, mais aussi la production par les synoviocytes de métalloprotéinases, et de collagénases responsables de la dégradation des principaux composants du cartilage. L'implication du système RANK/RANKL dans la résorption osseuse sous-chondrale des patients atteints de PR est démontrée. Le RANKL est une cytokine exprimée à la surface des cellules de la lignée ostéoblastique, mais aussi des lymphocytes actifs et des cellules endothéliales.

La production de RANKL est régulée par les cytokines pro-inflammatoires telles que l'IL6 et le TNF α , mais aussi l'IL17. RANK est le récepteur membranaire de RANKL et l'ostéoprotégérine la forme soluble du récepteur. La liaison de RANKL à son récepteur membranaire RANK, présent sur les préostéoclastes, favorise la différenciation et l'activation des ostéoclastes. (84)

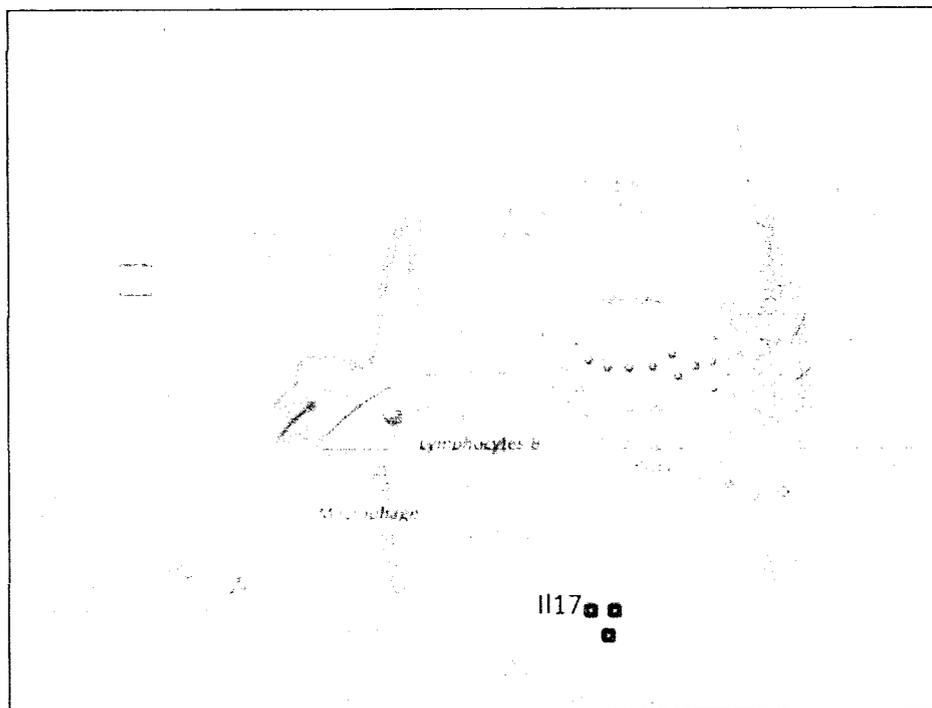


Figure 3: Schéma général de la physiopathologie dans la PR. (111)

4-Clinique:

Evolution variable, formes plus ou moins sévères, manifestations extra-articulaires... la polyarthrite rhumatoïde est une maladie aux multiples visages qu'il n'est pas toujours facile de diagnostiquer.

4-1-Les manifestations articulaires :

La forme classique de la PR est caractérisée par l'atteinte des articulations de façon symétrique, c'est-à-dire que les deux côtés du corps sont touchés de la même manière. Au début ou lorsque la progression de la maladie est modérée, les atteintes peuvent cependant survenir asymétriquement.

Le tableau suivant donne un aperçu des atteintes articulaires les plus fréquentes, au début de la maladie, puis au cours de son évolution. Voir tableau 1. (48)

Localisation	Des articulations touchées au début de la maladie		Des articulations touchées ultérieurement
	Du coté droit	Du coté gauche	
Articulations proximales des doigts	65%	58%	87%
Poignets	60%	57%	82%
Articulations médianes des doigts	63%	53%	63%
Articulations proximales des orteils	48%	47%	48%
Articulations des épaules	37%	42%	47%
Articulations des genoux	35%	30%	56%
Articulations des chevilles	25%	23%	53%
Articulations des coudes	20%	15%	21%

Tableau 1 : Articulations atteintes dans la PR.

A/ A un stade précoce :

➤ Typiquement on décrit une polyarthrite bilatérale, symétrique et « nue » :

Cela signifie qu'il n'existe aucun signe extra-articulaire ou axial associé dans 70 % des cas. Elle touche les poignets et une ou plusieurs articulations métacarpophalangiennes (deuxième et troisième le plus souvent) ou interphalangiennes proximales. On note habituellement un respect des articulations interphalangiennes distales. Ces atteintes articulaires sont fixes et

symétriques. Les douleurs sont de rythme inflammatoire : réveil nocturne et dérouillage matinal supérieur à 30 minutes.

Le signe clinique à la palpation est la synovite (voir Figure 04) : gonflement articulaire rénitent parfois tendu. Au doigt, on note un aspect caractéristique de « fuseau » ; au poignet une tuméfaction avec parfois, ce qui est évocateur, une ténosynovite cubitale.

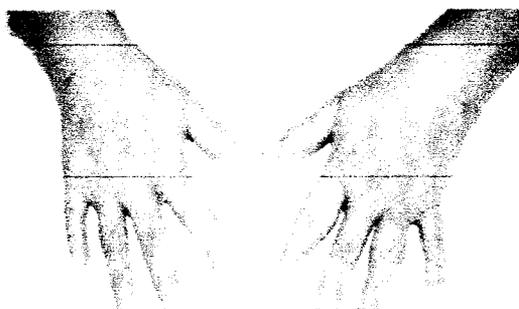


Figure 4 : Photo des deux mains d'un malade présentant une synovite des carpes et des IPP. (114)

Initialement, on observe fréquemment des métatarsalgies bilatérales apparaissant dès le premier pas le matin. L'examen clinique peut montrer une douleur à la compression latérale des métatarsophalangiennes ou des métacarpophalangiennes (squeeze test des Anglo-Saxons) qui est assez évocatrice du diagnostic de PR débutante.

Le diagnostic précoce de la PR est fondamental : il est recommandé de confier le patient à un rhumatologue s'il y a présence d'au moins un des signes suivants :

- Au moins trois articulations gonflées.
- Une douleur à la compression latérale des métatarsophalangiennes ou des métacarpophalangiennes .
- Une raideur matinale de plus de 30 minutes.

Le rhumatologue pourra utiliser si besoin les nouveaux critères EULAR/ACR 2010 (démarche collaborative entre les rhumatologues européens et américains), dont le but est d'identifier très précocement les malades qui ont une PR récente qui nécessite un traitement par Méthotrexate. La première étape de cette démarche est la confirmation d'au moins une synovite par le médecin, puis ce dernier doit éliminer les autres diagnostics (qui pourraient mieux expliquer les synovites). Si ces deux premières étapes sont « passées », alors on utilisera les nouveaux critères de classification (tableau 3). (117)

- **Dans certains cas** (10 % des cas), d'autres manifestations articulaires peuvent être révélatrices :
 - Atteinte rhizomélique (atteinte prédominante de la ceinture scapulaire et du bassin) : plus fréquente après 65 ans.
 - Monoarthrite du poignet ou du genou ou ténosynovite isolée.
 - Rhumatisme intermittent avec poussée monoarticulaire, très inflammatoire, d'évolution spontanément régressive en 24 à 48 heures sans séquelle. (117)

B/ A un stade avéré :

C'est le stade où coexistent des signes inflammatoires (arthrites et ténosynovites) et des déformations articulaires, les mains sont touchées dans 90% des cas.

- Atteinte des doigts : Ils sont le siège de déformations qui sont caractéristiques de la maladie:
 - Coup de vent cubital (voir Figures 05.06)
 - Tuméfaction des 2^o et 3^o MCP
 - Déformation en col de cygne (hyper-extension de l'IPP et flexion de l'IPD) en boutonnière (flexion de l'IPP et hyper-extension de l'IPD) ou en maillet (chute en flexion de la dernière phalange)
 - Pouce en Z. Il est important d'évaluer la qualité de la pince pollicidigitale (opposition du pouce aux autres)
 - Atrophie des muscles inter-osseux.



Figures 5.6 : Photos des malades souffrants d'une déviation « en coup de vent cubital » des doigts. (21)

- Atteinte du poignet : Les lésions articulaires sont responsables d'une subluxation ventrale du carpe, une inclinaison radiale et surtout une luxation de la styloïde cubitale, à l'origine d'un signe de la touche de piano, pouvant se compliquer d'une rupture des extenseurs des 4^o et 5^o

doigts. Les ténosynovites sont fréquentes. L'atteinte des tendons réalise une tuméfaction de la paume, parfois responsable d'un syndrome du canal carpien.

- Atteinte des avant-pieds : Elle est tout aussi fréquente que celle de la main. Elle est souvent plus précoce ; il s'agit d'une déformation du gros orteil en hallux valgus (Figure 07), du 5^e orteil en quintus varus avec avant-pied triangulaire. Les orteils peuvent être déformés avec un coup de vent péronier ou des orteils en griffe, à l'origine de durillons ulcérés conflit pied-chaussure.

- Atteinte de l'arrière-pied : L'atteinte de la voûte plantaire est responsable d'un pied plat valgus "inflammatoire"

L'arthrite peut toucher l'articulation tibio-tarsienne, l'articulation sous-astragaliennne ou l'ensemble des articulations tarse. Les ténosynovites du jambier postérieur, des péroniers latéraux ou du jambier antérieur sont fréquentes.



Figure 7 : Schéma d'un Hallux valgus. (87)

- Atteinte du genou : L'atteinte est souvent précoce, de type hydarthroïdale (avec épanchement). L'épanchement doit être ponctionné, permettant une analyse du liquide articulaire. L'hydarthrose peut se compliquer d'un kyste poplité de douleurs postérieures ou d'un tableau de pseudo-phlébite par compression des éléments vasculaires du creux poplité. La déformation peut se faire en flexum, à l'origine d'un retentissement fonctionnel très invalidant.

- Atteinte de la hanche : Elle est habituellement tardive et peu fréquente au cours de l'évolution de la maladie, elle réalise une coxite déminéralisante avec pincement articulaire homogène et évolue vers la protrusion acétabulaire, elle est source d'un handicap majeur.

- Atteinte de l'épaule : Elle est fréquente et parfois inaugurale. Elle débute souvent par une bursite sous-acromio-deltoïdienne puis s'étend à la cavité articulaire. Dououreuse, elle est responsable d'une limitation précoce des amplitudes articulaires. L'examen radiologique dépiste précocement la déminéralisation épiphysaire et une ulcération du sulcus, à la partie supérieure de la jonction tête-col.

- Atteinte du coude : Fréquente, elle se traduit par une perte de l'extension. La synovite doit être recherchée entre l'olécrane et la tête du radius. L'articulation peut être le siège d'un épanchement abondant. Synovite et hydarthrose peuvent être responsables d'une compression neurologique de voisinage : compression du nerf cubital au coude.

- Rachis cervical : L'atteinte de la charnière cervico-occipitale représente la principale localisation rachidienne de la PR. Elle est responsable de cervicalgie d'horaire inflammatoire. La luxation atloïdo-axoïdienne antérieure est liée à la rupture du ligament transverse rétro-odontoïdien. Souvent latente cliniquement, elle peut se compliquer de compression médullaire. Elle doit être recherchée par des radiographies du rachis cervical centrées sur C1-C2, de profil avec des clichés en position neutre, en flexion et en extension. Ces clichés mettent en évidence le diastasis C1-C2, espace entre le corps de l'atlas et la dent de l'odontoïde, pathologique quand supérieur à 3 mm.

- Atteinte de l'articulation temporo-maxillaire.

- Atteinte de l'articulation sterno-claviculaire.

C'est la période au cours de laquelle sont associés un syndrome inflammatoire et des signes du syndrome dys-immunitaire, dominés par la présence de facteurs rhumatoïdes. (109)

C/ A un stade séquellaire :

C'est le devenir de la maladie après plusieurs années de poussées évolutives.

Les signes histologiques synoviaux perdent leurs caractéristiques : la synoviale devient fibreuse, l'infiltrat lymphoplasmocytaire est minime ou absent. L'histologie n'est plus évocatrice de la maladie rhumatoïde.

Les signes cliniques associent des douleurs inflammatoires et des douleurs mécaniques, secondaires à la destruction articulaire. Les synovites sont plus rares.

Le syndrome biologique inflammatoire est souvent réduit voir absent. La PR est éteinte. Les traitements de fond sont souvent inefficaces à ce stade. (109)

4-2-Les manifestations extra-articulaires :

Ils se voient surtout au début, lors de l'installation de la maladie sur un mode aigu. Ils peuvent ensuite se répéter lors des poussées évolutives. L'asthénie est souvent marquée. Une fébricule est plus rare.

4-2-1 - Les nodosités sous-cutanées ou nodules rhumatoïdes : (Voir Figure 8)

Ils représentent la manifestation extra-articulaire la plus fréquente de la maladie (environ 20% des patients). Il s'agit de tuméfactions sous-cutanées fermes, mobiles, arrondies et indolores siégeant électivement à la face postérieure des avant-bras, à la région olécranienne, au dos de la main à proximité des articulations touchées, plus rarement sur les genoux, les tendons d'Achille, le cuir chevelu... Ils peuvent régresser spontanément. Dans les zones exposées aux traumatismes (région olécranienne), ils peuvent s'ulcérer et s'infecter.

Les signes histologiques sont caractéristiques : Zone centrale de nécrose fibrinoïde, entourée d'une bordure palissadique d'histiocytes et d'un tissu conjonctif infiltré de plasmocytes et de lymphocytes.

Les nodules rhumatoïdes sous-cutanés sont très caractéristiques de la PR mais non absolument spécifiques. Ils peuvent se voir au cours d'autres connectivites et même de façon isolée, en l'absence de toute autre maladie (nodulite rhumatoïde). (109)

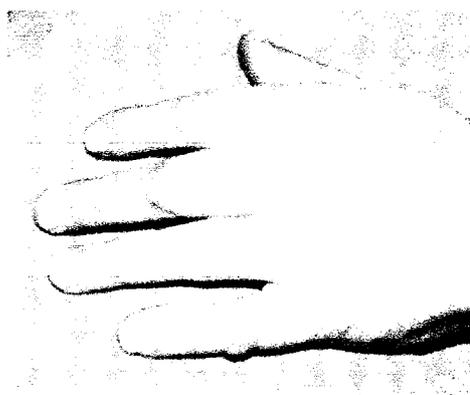


Figure 8 : Photo d'un malade présentant des nodules rhumatoïdes au cours de la PR. (112)

4-2-2-Les adénopathies et la splénomégalie :

Les adénopathies sont présentes dans 30% des cas. Elles sont surtout palpées aux aisselles, aux gouttières sus-épitrochléennes et aux aines. Histologiquement, elles correspondent à des adénopathies dysimmunitaires sans aucun signe de malignité (respect des structures ganglionnaires normales).

Une splénomégalie est exceptionnellement rencontrée au cours de la PR. Associée à une leucopénie et à des ulcères de jambe, elle définit alors le syndrome de Felty (rare : moins de 1% de l'ensemble des PR). (109)

4-2-3-Atteinte rénale :

L'apparition de signes rénaux au cours de la maladie rhumatoïde doit faire redouter une amylose AA « Cliniquement l'amylose se traduit par une atteinte rénale avec, au début, une protéinurie, puis, secondairement, un syndrome néphrotique puis une insuffisance rénale progressive. On peut également observer des tuméfactions indolores de l'épaule. », ou le plus souvent une atteinte iatrogène avec une glomérulonéphrite interstitielle ou une glomérulonéphrite extra-membraneuse. Une atteinte propre liée à la polyarthrite rhumatoïde est beaucoup plus rare. (109)

L'amylose rénale est une complication dont la fréquence est difficile à estimer mais qui est de l'ordre de 3 à 30%. (3)

4-2-4-Les manifestations pleuro-pulmonaires :(voir figure 9)

- La pleurésie exsudative (1% des cas) est souvent unilatérale. L'épanchement est rarement très abondant, se manifestant par une douleur thoracique latérale basse, une toux et une dyspnée. L'épanchement est jaune riche en facteurs rhumatoïdes, pauvre en glucose. La cellularité est variable, souvent entre 1 000 à 5 000 cellules par mm³ (polynucléaires et lymphocytes). Elle guérit le plus souvent en moins de 3 mois, spontanément ou sous l'effet d'un traitement corticoïde.
- La fibrose pulmonaire interstitielle diffuse représente la manifestation pulmonaire la plus fréquente : 5 à 20% des cas selon les auteurs. La radiographie montre des opacités réticulo-nodulaires. Les épreuves fonctionnelles respiratoires permettent le suivi de cette fibrose. Elles témoignent d'un syndrome restrictif avec diminution de la diffusion de l'oxyde de carbone. Le lavage broncho-alvéolaire montre une augmentation des cellules : polynucléaires et lymphocytes. La fibrose pulmonaire complique surtout les PR masculines et son pronostic est souvent sévère.
- Les nodules rhumatoïdes peuvent être découverts à la radio dans le parenchyme pulmonaire. Les difficultés diagnostiques avec une pathologie tumorale ou tuberculeuse justifient parfois la réalisation d'une biopsie. Ils sont plus fréquents au cours des PR masculines avec facteurs rhumatoïdes positifs. Associés à une silicose, ils définissent le syndrome de Caplan-Colinet. (109)



Figure 9 : Radiographie de thorax d'un patient souffrant de PR démontrant un infiltrat réticulaire prédominant aux bases. (80)

4-2-5-Les manifestations cardiaques :

- La péricardite est habituellement asymptomatique.
- Les troubles de la conduction et les lésions valvulaires sont exceptionnelles. (109)

4-2-6-Manifestations hématologiques :

- L'anémie est fréquente et corrélée le plus souvent à l'intensité du syndrome inflammatoire.
- Le syndrome de Felty associé à la polyarthrite rhumatoïde comprend une splénomégalie isolée et une leuconéutropénie. Il est à rapprocher de la lymphocytose à larges lymphocytes granuleux constituée d'une prolifération médullaire et sanguine lymphocytaire monoclonale T de phénotype CD3+CD8+CD57+. Il survient au cours d'une polyarthrite rhumatoïde ancienne, érosive, nodulaire, fortement séropositive avec présence de facteurs antinucléaires. Il s'agit d'un syndrome au pronostic défavorable en raison du risque d'infection grave et récidivante liée à la leuconéutropénie. Son pronostic est habituellement plus favorable. (109)

4-3-D'autres maladies auto-immunes associées à la PR :

4-3-1-Le syndrome sec : 20 à 25% des cas

C'est l'association de la PR à un syndrome de Gougerot-Sjögren qui est dit alors secondaire. La sécheresse (xérophtalmie) est évaluée par le test de Shirmer et l'examen au Rose Bengale. La sécheresse buccale (Figure 10) est appréciée par le test à la compresse. Le diagnostic de Gougerot-Sjögren peut être confirmé par la biopsie des glandes salivaires accessoires. (109)



Figure10: Syndrome sec. (96)

4-3-2-Les vascularites : (représente 1%)

Les manifestations cliniques de vascularite compliquent surtout les PR anciennes, nodulaires, destructrices et masculines. Elles sont habituellement associées à la présence de facteurs rhumatoïdes, à des anticorps anti-nucléaire et une baisse du complément sérique.

Les signes cliniques sont polymorphes:

- Signes cutanés, les plus fréquents: micro-infarctus digitaux, ulcères cutanés, purpura vasculaire, gangrène.
- Signes neurologiques: polynévrite, multinévrite sensitivo-motrice
- Signes musculaires et digestifs
- signes généraux : fièvre, amaigrissement. (109)

4-3-3-Autres :

- Syndrome de Raynaud (5 à 10% des cas)
- Amylose secondaire : complication tardive des PR très inflammatoires.
- Oculaires : (1 à 5 % des patients) sclérite et scléromalacie perforante (exceptionnelles). (109)
- Polyarthrite aiguë fébrile : Dans 10 à 15 % des cas, il s'agit d'une polyarthrite aiguë fébrile avec altération de l'état général et fièvre supérieure à 38,5 °C. Il faudra cependant éliminer une polyarthrite infectieuse par le diagnostic différentiel. (117)

5-Diagnostic:

Depuis 2010, comme l'imagerie (échographie et IRM), la biologie a pris une part grandissante dans le diagnostic de la PR, en 2010 ont donc été publié conjointement par les deux grandes sociétés de rhumatologie américaine, l'ACR (American College of Rheumatology) et européenne, l'EULAR (European League Against Rheumatism), de nouveaux critères qui permettent d'harmoniser au niveau international la définition précise d'une polyarthrite rhumatoïde. Ce travail mené par de nombreux experts de la maladie est un événement marquant car il est rare d'avoir un tel consensus entre professionnels au niveau international.

Ces nouveaux critères combinent plusieurs éléments comme les atteintes des articulations, l'inflammation (dépistée par des tests de biologie médicale), la présence d'anticorps spécifiques (on parle de "sérologie") ou encore la durée des symptômes.

À partir de ces différents éléments, il est possible pour chaque patient suspecté de présenter une polyarthrite rhumatoïde, de calculer un score entre 1 et 10 et de dire pour chaque patient suspecté s'il présente ou non une polyarthrite rhumatoïde.

Les nouveaux critères ACR / EULAR donnent donc la possibilité de diagnostiquer plus précocement la maladie et permettent aux médecins de proposer un traitement de fond plus tôt au cours de son évolution. (Congrès de la SFR 2010 : à la découverte des nouveaux critères ACR /EULAR de la PR).

Critères ACR de classification d'une polyarthrite rhumatoïde

Pour que le diagnostic de PR soit confirmé, le patient doit présenter au moins 4 critères parmi les 7 suivants

- 1- Dérouillage matinal péri-articulaire et articulaire durant au moins une heure avant l'amélioration maximale.*
- 2- Au moins trois régions articulaires doivent avoir présenté simultanément une tuméfaction des tissus mous ou la présence de liquide (pas uniquement d'excroissance osseuse) observée par un médecin. Les 7 régions concernées sont les inter-phalangiennes proximales (IPP), métacarpophalangiennes (MCP), métatarso-phalangiennes, poignets, coudes, genoux, et les chevilles.
- 3- Au moins une région tuméfiée parmi les 3 suivantes : IPP, MCP, ou poignets.
- 4- Atteinte simultanée de la même région articulaire (voir cidessus) bilatérale (l'atteinte bilatérale des IPP, MCP, ou MTP est acceptable sans symétrie absolue).
- 5- Nodules sous cutanés sur excroissance osseuse ou sur de larges surfaces ou juxtra-articulaires, observés par un médecin.
- 6- Démonstration de taux sérique de facteur rhumatoïde anormal par toute méthode dont les résultats se sont avérés positifs chez moins de 5% des témoins normaux.
- 7- Signes radiographiques caractéristiques de la PR (en postéro antérieur de la main et du poignet) qui doivent révéler des érosions ou une décalcification osseuse non équivoque au niveau ou au voisinage des articulations atteintes (les seuls signes d'arthrose ne sont pas pris en compte).

*ces critères doivent être présents depuis au moins 6 semaines

Tableau 2: Critères de classification de la PR selon l'ACR (1987). (6)

Atteintes articulaires	Score
1 grosse articulation	0
2 à 10 grosses articulations (symétriques ou non)	1
1 à 3 petites articulations	2
4 à 10 petites articulations	3
>10 articulations (dont au moins une petite)	5
Marqueurs sérologiques	
Facteurs rhumatoïdes (FR) et ACPA négatifs	0
FR ou ACPA faiblement positifs	2
FR ou ACPA fortement positifs	3
Marqueurs de l'inflammation	
VS et CRP normales	0
VS et CRP anormales	1
Durée des symptômes	
<6 semaines	0
>ou = 6 semaines	1

Tableau 3: Nouveaux critères ACR/EULAR de la polyarthrite rhumatoïde (2010) (115)

***Grosses articulations** : épaules-coudes-hanches-genoux

***Faiblement positifs** : >seuil mais <3 fois le seuil

***Fortement positifs** : >3 fois le seuil

Une PR est diagnostiquée si le score est > ou = a 6

5-1 - Examen radiographique :

Les signes caractéristiques de la PR apparaissent rarement avant 6 mois d'évolution et se manifestent souvent au niveau de la tête du 5^{ème} métatarsien. Ils comportent au début un épaissement des parties molles, une augmentation de la transparence radiologique épiphysaire, " l'ostéoporose en bande ". Ensuite apparaissent les érosions périarticulaires puis des géodes intra-osseuses juxta-articulaires caractéristiques et secondairement le pincement de l'interligne articulaire qui traduit la destruction du cartilage. (56)

Les examens radiographiques sont réalisés dans le but d'éliminer d'autres diagnostics (recherche d'adénopathies sur la radiographie de thorax pouvant faire évoquer une sarcoïdose, liseré de chondrocalcinose, etc.), de rechercher la présence d'érosions caractéristiques des articulations des mains et des pieds (elles sont exceptionnelles à la phase de début, leur présence étant alors de mauvais pronostic) et de servir de référence pour la surveillance

évolutive ultérieure. La radiographie standard est le plus souvent normale. L'utilisation de l'échographie des mains ou des pieds et de l'IRM se développe actuellement dans le but de confirmer (ou de montrer précocement) l'existence d'une synovite, de confirmer ou d'infirmer l'existence d'érosions articulaires et de définir le siège précis de l'atteinte articulaire. (117)



Figure 11 : Radiographie des deux mains mettant en évidence la localisation des lésions, la bilatéralité, l'éventuelle symétrie, 1-Radius, 2-Ulna(cubitus),3-Articulation MCP de 5eme rayon, 4-Articulation IPP,5-Articulation IPD,6-MI-Métacarpien I, 7-MV- Métacarpien V, G-main gauche, D-main droite. (105)

5-2-Bilans biologiques sanguins :

5-2-1 - Bilan inflammatoire :

Il existe dans 90 % des cas un syndrome inflammatoire non spécifique, avec augmentation de la vitesse de sédimentation globulaire (VS), parfois de la CRP, une augmentation des alpha-2 globuline et, parfois, des gammaglobulines à l'électrophorèse des protéines sériques, une hyperleucocytose avec polynucléose, une hyperthrombocytose, une anémie modérée, normo ou hypochrome, hyposidérémique, d'origine inflammatoire.

-La vitesse de sédimentation (VS) :

Egalement appelée réaction de Biernacki, est une mesure non spécifique de l'inflammation, utilisée fréquemment comme test médical d'orientation.

Quand il y a un processus inflammatoire, la haute teneur en fibrinogène du sang fait que les globules rouges se collent ensemble. Les globules rouges en rouleaux sédimentent plus vite.

(51)

Selon Miller :

Pour les hommes, la VS normale correspond à son âge divisé par deux.

$$VS_{\text{Homme}} = \text{Age} / 2$$

Pour les femmes, la VS normale correspond à la somme de son âge plus dix, le tout divisé par deux.

$$VS_{\text{Femme}} = (\text{Age} + 10) / 2 \quad (43)$$

Age	Avant 50 ans	Après 50 ans
Sexe		
Homme	Vs<15	Vs<20
Femme	Vs<20	Vs<30

Tableau 4 : les valeurs normales de la VS selon Sox. (89)

La différence des valeurs observée entre les deux sexes est due, d'une part au fait que le nombre et la taille des globules rouges sont plus bas chez la femme que chez l'homme, et d'autre part à des influences hormonales.

Le syndrome inflammatoire lorsque la PR est en poussée se traduit par une augmentation de la VS. (2)

-Numération-formule sanguine NFS :

Examen biologique permettant de comptabiliser les différents éléments figurés du sang (plaquettes, globules rouges, différentes catégories de globules blancs).

La numération formule sanguine (N.F.S.) est l'un des examens biologiques les plus prescrits. En effet, les différentes cellules du sang peuvent être modifiées dans des circonstances très variées. Une anomalie de l'hémogramme est donc un bon moyen de dépister des maladies très diverses. La numération formule sanguine se pratique sur un prélèvement de 5 millilitres de sang dans une veine, au pli du coude. Les résultats sont obtenus en quelques heures.

Les appareils actuels, dont la précision est grande, ne se cantonnent pas au comptage des éléments du sang ; ils sont également capables de mesurer le volume et le contenu en hémoglobine des globules rouges, le volume des plaquettes et de signaler les formes cellulaires anormales. C'est pourquoi la notion d'hémogramme devrait progressivement supplanter celle de numération formule sanguine. (2)

Environ 80% de personnes atteintes de PR développent une anémie inflammatoire microcytaire normochrome. (107)

-La Protéine C réactive (CRP) :

C'est une protéine fabriquée par le foie, constitue un marqueur spécifique et sensible de la phase aiguë de l'inflammation. (56)

La CRP est une protéine qui reflète l'inflammation aiguë ; elle s'élève très rapidement au cours de processus inflammatoires et permet un diagnostic différentiel entre certaines pathologies.

Les personnes atteintes de polyarthrite rhumatoïde évolutive présentent souvent un taux élevé de protéine C réactive (Valeur normale : < 6 mg /l). (117)

5-2-2-Bilan immunologique:

5.2.2.1. Recherche des Facteurs rhumatoïdes (FR) :

Le facteur rhumatoïde (FR) est un anticorps anti-gammaglobulinique qui appartient le plus souvent à la classe des IgM. Il peut être aussi de type IgA, IgG. Quelle que soit la classe immunoglobulinique de ces facteurs, leur point commun est d'être toujours dirigés contre les immunoglobulines G humaines ou animales. La spécificité de ces facteurs est très variable et leur hétérogénéité est grande. Certains FR sont hétérospécifiques et réagissent avec des IgG animales (par exemple lapin dans la réaction de Waaler-Rose), d'autres sont homospécifiques réagissant avec des IgG humaines (test au latex) ou autospécifiques réagissant alors avec les allotypes des IgG du malade lui-même.

Les FR sont des anticorps anti-gammaglobuliniques dirigés contre les IgG. Ils réagissent avec le domaine CH2 de la partie Fc des immunoglobulines humaines et la partie CH2 et CH3 des IgG de lapin. La diversité allotypique des immunoglobulines se traduit par des variations génétiques d'un groupe de sujets à l'autre en fonction d'allèles qui s'expriment comme des variants portés par la chaîne H. On décrit ainsi les groupes Gm sur les chaînes lourdes des IgG et Am sur les IgA. Les séquences Gm constituent des antigènes reconnus par de nombreux FR. D'autres séquences communes à plusieurs sous-classes d'IgG (antigène Ga) constituent la cible du FR. Certains FR peuvent s'auto-agglutiner en formant des polymères comprenant de nombreuses molécules identiques. La valence des IgM étant de 10, un FR se lie à 5 molécules d'IgM et forme donc un complexe macromoléculaire. Le FR rencontré au cours de la PR est polyclonal, de faible spécificité et de faible affinité, contrairement au FR monoclonal observé dans les maladies lymphoprolifératives malignes. La synthèse de FR-IgM d'idiotype public n'est pas spécifique à la PR et peut être induite chez des sujets sains après stimulation polyclonale du système immunitaire (détection transitoire de FR après une vaccination).

Les méthodes sérologiques classiques de détection des FR : ne mettent pratiquement en évidence que les FR de type IgM qui sont seuls agglutinants.

-Par réaction de Waaler-Rose : est de moins en moins utilisée.

Elle est réalisée au moyen de globules rouges de mouton sensibilisés par du sérum de lapin anti-globules rouges de mouton. Certains laboratoires, utilisent des hématies humaines O rhésus négatif sensibilisées par un sérum de lapin anti-globules rouges humains O rhésus négatif.

La réaction de Waaler-Rose peut être considérée comme positive en pratique à partir du titre de 1/64e (sur lame).

-Par le test au latex :

Utilise des particules de polystyrène recouvertes d'immunoglobulines humaines. En règle générale les tests de Waaler-Rose et au latex sont positifs en même temps. Cependant des réactions dissociées sont possibles : latex positif - Waaler-Rose négative, l'inverse étant exceptionnel. Cela peut s'expliquer par la plus grande sensibilité du test au latex et par la nature différente des immunoglobulines avec lesquelles réagissent les FR dans ces deux réactions.

Le test au latex en tube est considéré comme positif à partir de la dilution au 1/80e.

Ces 2 tests « historiques » ne devraient plus être effectués en routine et systématiquement remplacés par une des deux techniques suivantes qui ont une bonne sensibilité et une meilleure spécificité. (20)

-Par La néphélométrie laser :

Elle mesure l'intensité de la lumière dispersée par le complexe formé de particules de polystyrène sensibilisées et de facteurs rhumatoïdes. Les immunoglobulines fixées sur le polystyrène peuvent être d'origine humaine, animale ou constituées d'un mélange. C'est une technique automatisable, reproductible, linéaire, sensible qui, grâce à la forte dilution du sérum, s'affranchit de certaines interférences. (92)

Le test à la néphélométrie est considéré positif à partir de 20 UI/mL. (20)

-Par le test ELISA :

C'est une méthode très sensible de détection des FR qui peut déterminer les différents isotypes (IgM, IgA, IgG).

L'interprétation convenable des résultats de la détection du FR nécessite que le laboratoire précise la technique utilisée et exprime la réponse, si elle est positive, de manière quantifiée en unités internationales. (20)

- La valeur diagnostique des FR dépend du type et de la durée d'évolution de la PR.
 - 20 % des PR n'ont pas de FR quelle que soit l'évolution.
 - 30 % des PR ont des FR qui n'apparaissent qu'au cours de la 2^{ème} année d'évolution.
- Les FR ne sont pas des marqueurs très spécifiques de la PR car ils sont détectés dans de nombreuses autres circonstances cliniques. (117)

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

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

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

présence de FR IgA serait, pour certains, associée à une PR plus sévère et volontiers accompagnée de manifestations extra-articulaires (syndrome sec, nodules). (20)

Tableau 5: Présence de FR dans des situations autres que la PR. (20)

	Pourcentage de positivité
Sujets normaux < 65 ans	1-15
Sujets normaux > 65 ans	7-30
Sujets sains parents de PR	15-20
Lupus érythémateux disséminé	25-40
Sclérodermie	20-50
Dermatomyosite	12-20
Gougerot-Sjögren	75-98
Infections bactériennes	11-20
Infections virales	14-17
Mononucléose infectieuse	4-72
Endocardite d'Osler	30-50
Tuberculose	5-15
Lèpre	15-30
Syphilis	15-25
Leishmaniose	90-100
Silicose (sans PR)	15-42
Bronchite	18-62
Fibrose pulmonaire	32-46
Macroglobulinémie	22-30
Myélome	4-18

5.2.2.2. Recherche des anticorps anti-peptides citrullinés (ACCP):

Ces anticorps ont d'abord été connus sous le terme d'anticorps anti-kératine (AKA) puis maintenant sous le nom d'anticorps anti fillagrine (AFA). Récemment il a été montré que la filaggrine subissait d'importantes modifications sous l'effet de peptydylarginines déiminases et que les anticorps « anti-filaggrine » étaient dirigés contre des protéines déiminées dont les résidus arginines étaient transformés en citrulline (La citrulline est un acide aminé "non-standard". Les acides aminés composent les protéines de l'organisme sont au nombre de 20. La citrulline est issue d'une modification de l'arginine, et plusieurs protéines contiennent de la citrulline)

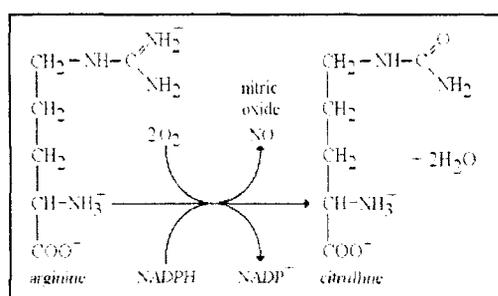


Figure 12: Citrullination de l'arginine.

Parmi ces anticorps « anti-filaggrine », les anticorps anti-peptides cycliques citrullinés (anti-CCP) sont dosés par une technique ELISA (1^{ère} génération en 2000 /2^{ème} génération en 2002 /3^{ème} génération en 2003) avec une meilleure sensibilité de 60% et une très bonne spécificité comprise entre 95-99 %. La détermination associée des anticorps anti-CCP et du FR augmenterait la valeur prédictive positive par rapport à la détermination d'un seul test. (56)

La détection se fait par la technique ELISA. La plupart des méthodes commercialisées utilisent des peptides synthétiques cycliques citrullinés fixés au fond des puits d'une microplaque. L'utilisation de peptides synthétiques permet de disposer d'un antigène de qualité reproductible et la cyclisation permet une meilleure présentation antigénique et respecte mieux la conformation initiale de l'antigène. Les anticorps fixés sont révélés à l'aide d'une anti-IgG marquée par une enzyme. Dans les trousse de deuxième génération, le choix des peptides synthétiques utilisés a été modifié de façon à améliorer les performances de détection des anticorps et plus particulièrement leur sensibilité. (59)

En fait, seuls les kits à base de peptides citrullinés permettent une reconnaissance spécifique. En 1999, l'équipe de Walther J. van Venrooij a synthétisé plusieurs peptides dérivés d'une séquence d'acides aminés particulière de la filaggrine humaine (séquence 306-324) et possédant des degrés de citrullination différents. Un peptide cyclique a alors été sélectionné

pour produire un test Elisa anti-CCP de première génération (CCP1). Ce test, doté d'une sensibilité de 68 % (pour une PR de plus de deux ans) et d'une spécificité de 95 %, a ensuite été commercialisé par la société Euro-Diagnostica (Arnhem, Pays-Bas) sous le nom d'ImmunoScanRA.

En 2002, sont apparus des tests Elisa de deuxième génération (CCP2) qui comprenaient non plus un mais plusieurs peptides citrullines dont la sensibilité est de 64-77% et la spécificité est de >95%. (64)

En 2005, des trousse utilisant un antigène de 3ème génération (CCP3) sont devenues disponibles. Les tests utilisant cette 3ème génération de peptide ont été montrés approximativement 5% plus sensible que les tests utilisant l'antigène CCP2 et d'une spécificité équivalente. L'antigène utilisé dans la trousse de 3^{ème} génération est plus récent, il s'agit d'un peptide CCP3 de 3ème génération. Cette trousse utilise un conjugué qui détecte les anticorps IgA en plus des anticorps IgG habituels. La sensibilité supérieure à celle de la trousse CCP 3 vient du fait que quelques patients atteints d'une polyarthrite rhumatoïde ont des anticorps IgA anti-CCP3 en l'absence d'anticorps anti IgG. Les améliorations supplémentaires de la trousse CCP 3 d'ELISA comprennent des puits détachables codés par des couleurs et la possibilité d'utiliser soit des échantillons de sérum de patient, soit de plasma. (54)

-Sensibilité de la technique

Elle varie selon les auteurs de 41 à 66% et dépend d'un réactif à l'autre du nombre de peptides différents qui auront été fixés dans les puits de la microplaque. En effet, il semble que pour certains de ces Kits Elisa, au moins 10 peptides différents ont été utilisés comme antigène car le profil de réactivité avec les différents peptides différent d'un sujet à l'autre. Les différences observées vont dépendre également de la cohorte étudiée. Ainsi, la fréquence de positivité est plus faible dans les PR récentes sans facteurs rhumatoïdes que dans les PR comportant des FR ou des antifilagrine détectées par immunofluorescence indirecte. Les trousse de deuxième génération semblent avoir une meilleure sensibilité, supérieure ou égale à 70 %. (59).

-Spécificité de la technique :

La spécificité évaluée par rapport à des sujets sains est excellente et supérieure à 99 %. Les études intégrant dans leurs groupes contrôles d'autres maladies auto-immunes avec un effectif suffisant retrouvent peu de faux positifs parmi les patients atteints de syndrome de Sjögren. L'étude de Bizzaro et al. portant sur 232 sérums dont 24 syndromes de Sjögren

primitifs, 14 lupus érythémateux disséminés et 24 autres maladies rhumatismales, ne retrouve aucun faux positif parmi ces maladies auto-immunes. Les quelques faux positifs correspondent à des thyroïdites auto-immunes ($n=2$), des maladies de Lyme ($n=3$), un cas de gammopathie monoclonale ($n=1$) et un cas d'hépatite C. Cependant dans 2 cas, il semble que l'on ne puisse exclure l'association à une PR. L'étude de Schellenkens et al. portant sur 329 patients atteints d'une autre maladie rhumatismale, montre également une excellente spécificité avec quelques faux positifs dont un syndrome de Sjögren primitif, 1 lupus érythémateux disséminé, 3 sclérodermies. Cette étude comporte un effectif plus important de maladies auto-immunes entre 50 et 60 par pathologie, ce qui explique les quelques différences de résultats. Il paraît en effet pertinent d'évaluer cette spécificité par rapport à des patients ayant d'autres maladies auto-immunes en particulier des rhumatismes inflammatoires (Sjögren primitif, rhumatisme psoriasique) qui posent des problèmes de diagnostic différentiel.

L'intérêt essentiel de marqueurs biologiques de la PR réside dans leur présence à un stade précoce de la maladie de façon à pouvoir traiter le plus tôt possible pour bloquer son évolution. Ainsi des études se sont intéressées à la présence d'anti-CCP chez des PR de moins d'un an d'évolution et montrent une sensibilité entre 52 et 58 %. (59)

Dans une étude plus récente portant sur 317 patients ayant une PR, ils ont recherché les CCP2 chez 193 patients connus pour CCP3 positif et les CCP3 chez les 124 patients connus pour CCP2 positif.

Ils ont constaté que des valeurs similaires de CCP2 et de CCP3 chez 143 patients (45,1%). Des valeurs significativement supérieures de CCP3 versus CCP2 chez 144 patients (45,4%) contre des valeurs significativement supérieures de CCP2 versus CCP3 chez 30 patients. Par ailleurs ils ont observés 41 faux négatifs en CCP2 versus 11 faux négatifs en CCP3, ce qui a rapporté en prorata de la distribution initiale des patients en fonction de leur statut vis-à-vis des CCP, correspond à une sensibilité de 79% pour CCP2 contre 92% pour CCP3. (14)

5.2.2.3. Recherche des anticorps anti-facteurs nucléaires (FAN) :

Auto-anticorps les plus prescrits en pratique médicale, les anticorps anti-facteurs nucléaires (FAN) sont dépistés par immunofluorescence indirecte sur cellules HEp-2. Lorsque le résultat du dépistage est positif, les FAN sont titrés, identifiés et les résultats obtenus interprétés en fonction du contexte clinique ayant motivé leur recherche. Ce n'est, en effet, que de la

confrontation clinico-biologique que naît un diagnostic de connectivite ou d'hépatopathie auto-immune, principales indications de la recherche des FAN.

-Dépistage :

L'immunofluorescence indirecte (IFI) sur cellules HEP-2 reste le « gold standard » pour le dépistage des ANA. Il n'y a cependant pas de consensus concernant les facteurs pouvant influencer les résultats de l'IFI (conditions de culture et fixation des cellules HEP-2, dilution de dépistage, spécificité du conjugué...), ce qui constitue un véritable handicap aux tentatives de standardisation de la méthode.

En pratique, la plupart des laboratoires effectuent le dépistage des FAN à une dilution du sérum au 1/80e ou au 1/160e. Toutes techniques confondues, 10 à 15 % des sujets adultes apparemment sains ont des FAN à la dilution au 1/80e et 5 % au 1/160e, et cette fréquence augmente avec l'âge, principalement chez les femmes après 60 ans. De tels titres sont à l'évidence sans valeur diagnostique.

-Titrage :

Lorsque le dépistage est positif, des dilutions de raison 2 du sérum permettent de préciser le titre des FAN c'est à-dire l'inverse de la dernière dilution donnant encore une fluorescence. Chaque laboratoire doit définir son seuil de positivité et préciser sur la feuille de résultat si le titre observé est significatif (pathologique) ou non.

Lorsque le titre est élevé, le résultat est souvent rendu supérieur à une dilution limite (généralement 1/1 280).

Les titres élevés sont principalement observés dans les maladies auto-immunes mais ils peuvent être retrouvés dans d'autres circonstances. Il semble aussi que certains sujets apparemment sains développent des FAN à titre élevé avec un aspect de fluorescence particulier appelé « *dense fine speckled* » (Ac anti-DSF-70, l'antigène cible ayant un poids moléculaire de 70 kDa). Les situations au cours desquelles peuvent être observés des FAN figurent dans le **tableau 6.** (35)

Données cliniques	% Sujets ayant des FAN
Maladies auto-immunes	
Lupus érythémateux systémique	>95
Sclérodermie systémique	60-90
Syndrome de Gougerot-Sjörger	40-70
Dermatomyosite-polymyosite	40-70
Connectivite mixte	100
Polyarthrite rhumatoïde	15-50
Hépatopathies auto-immunes	Variable
Purpura thrombopénique idiopathique	10-30
Thyroïdite auto-immune	30-50
Sclérose en plaque	25
Autres circonstances	
Fibrose pulmonaire idiopathique	55
Infections	Variable Si chronique 10-50
Cancers	Variable
Fibromyalgie	15-20
ANA ou lupus induit par des médicaments	50-100
Implants mammaires en silicone	15-20
Sujets apparemment sains	
Population normale (Titre 1/160)	5 augmente avec l'âge ; femme > Homme
Apparentés de sujets avec connectivite	5-25
Grossesse	5-10

Tableau 6 : Situations au cours des quelles peuvent être observés des FAN. (35)

5.2.2.4. Autres auto-anticorps décrits au cours de la polyarthrite rhumatoïde :

D'autres auto-anticorps associés à la PR ont été décrits : **auto-anticorps anti-alpha-énolase**, **anti-calpastatine**, **anti-glucose-6-phosphate isomérase (GPI)**, **anti-RA33**, **anti-major microtubule organizing center (MTOC)**, **anti-peptidylargininedéiminase (PAD)**. Cependant, leurs performances diagnostiques (sensibilité, spécificité) sont moins bonnes que celles des ACPA, et ils ne sont pas recherchés en pratique courante. Récemment, l'analyse protéomique de liquides synoviaux de patients atteints de PR a défini un inventaire de protéines citrullinées dans l'articulation, dénommé «citrullinome». Parmi ces protéines, l'apolipoprotéine E, le myeloid nuclear differentiation antigen (MND) et la B-actine sont montrés comme des cibles du système immunitaire dans la PR. Pour chaque protéine, il existe des épitopes citrullinés immuno dominants et des tests multiplex utilisant des peptides immuno-dominants issus de ces trois protéines seraient plus prédictifs de PR que l'utilisation des peptides individuellement. D'autres auto-anticorps, distincts des ACPA et dirigés contre

des protéines modifiées par carbamylation (modification post-traductionnelle de résidus lysine en homocitrulline) ont été rapportés. Ces anticorps anti-protéines carbamylées (anti-CarP) ont été mis en évidence chez 45 % des patients avec PR. (59)

5-3-Examen du liquide synovial :

Tout épanchement intra-articulaire accessible doit être ponctionné pour une analyse bactériologique, cytologique et pour la recherche de microcristaux. La ponction soulage la douleur et l'analyse oriente le diagnostic. Il s'agit au cours de la PR d'un liquide inflammatoire non spécifique, riche en cellules, à majorité de polynucléaires neutrophiles. Parfois, la formule est à prédominance lymphocytaire. Le dosage du complément ou des auto-anticorps dans le liquide articulaire n'est pas nécessaire en pratique quotidienne. (117)

5-4-Examen anapathologie de la PR

La biopsie de la synoviale n'est que rarement faite et montre une synovite non spécifique. Les lésions initiales sont vasculaires : le nombre des vaisseaux synoviaux augmente avec un infiltrat inflammatoire composé de polynucléaires neutrophiles, macrophages, et lymphocytes. Ces lymphocytes peuvent s'organiser en nodules lymphoïdes constitués en majorité de lymphocytes T CD4+. La synovite est caractérisée par une hypertrophie des villosités synoviales et une multiplication des franges. Il existe une hyperplasie des cellules synoviales qui se répartissent en plusieurs couches successives. (57)

6-Diagnostic Différentiel :

6-1 Devant une mono arthrite chronique: Il faut éliminer une arthrite infectieuse et notamment tuberculeuse, par l'étude cytologique et bactériologique du liquide synovial voire par biopsie synoviale (cytologie, culture et PCR).

6-2 Devant une oligo ou une polyarthrite : Plusieurs syndromes sont évoqués.

6-2-1 Les polyarthrites d'origine infectieuse :

6-2-1-1 - Polyarthrites infectieuses d'origine bactérienne : Bien que rares, elles doivent toujours être évoquées.

-Les septicémies à **streptocoque, staphylocoque** voire à autre germe, même en l'absence de porte d'entrée et surtout s'il s'agit d'un terrain immunodéprimé. Une endocardite doit en

particulier être recherchée par un examen clinique attentif et au moindre doute une échocardiographie trans-oesophagienne.

- **La brucellose** est moins fréquente actuellement mais doit être évoquée chez les sujets exposés.

-Les polyarthrites **gonococciques** sont classiques. Il faut y penser devant une polyarthrite aiguë fébrile avec parfois ténosynovite survenant chez un sujet jeune.

-**La maladie de Lyme** (infection par *Borrelia burgdorferi*), secondaire à une piqûre de tique, doit être évoquée dans les zones d'endémie et confirmée par le sérodiagnostic.

-**La syphilis** secondaire devenue exceptionnelle peut classiquement se traduire par une polyarthrite subaiguë migratrice.

6-2-1-2 - Les polyarthrites d'origine virale :

Le liquide synovial des arthrites virales est à prédominance lympho-monocytaire. La polyarthrite de **l'hépatite virale A** ou **B** survient pendant la période préictérique. Le dosage des transaminases doit être systématique devant toute polyarthrite aiguë et complété par les études sérologiques.

-**L'infection par le virus de l'hépatite C** donne plutôt des polyarthralgies inflammatoires que de véritable polyarthrite mais doit être évoquée de principe. Un syndrome sec peut être associé.

-**Une infection par le HIV** doit être évoquée chez les sujets à risque. Elle peut donner des polyarthralgies parfois hyperalgiques ou une oligoarthrite avec parfois fièvre et myalgie.

-**Le virus HTLV1**, qui est un autre rétrovirus responsable de certaines maladies neurologiques dans la région des Antilles ou au Japon, peut donner également des tableaux de polyarthrite inflammatoire.

-**La rubéole**, notamment chez l'adulte, peut aussi donner une polyarthrite d'évolution régressive, de même d'ailleurs que des oreillons ou plus rarement la mononucléose infectieuse.

-**La vaccination antirubeolique** peut entraîner des polyarthrites subaiguës d'évolution transitoire. Actuellement on observe parfois des manifestations articulaires au décours de la vaccination contre le virus de l'hépatite B.

-**Les infections à parvovirus B19** donnent souvent un tableau de polyarthralgie voire d'oligo ou de polyarthrite proche de la PR. Le diagnostic sera confirmé par le sérodiagnostic.

Dans certaines régions on évoquera une polyarthrite aiguë parasitaire, notamment filarienne, surtout s'il y a une éosinophilie.

6-2-1-3 Les polyarthrites d'origine parasitaire : Chez les patients ayant vécu en Afrique ou en Asie, on évoque le diagnostic de la polyarthrite parasitaire et notamment filarienne, surtout s'il existe une éosinophilie. Les explorations sérologiques permettent d'orienter le diagnostic. Il faut également penser à une anguillulose qui peut être traité par une thérapeutique spécifique et qu'il ne faut surtout pas cortisoner.

6-2-2 - Rhumatismes post-streptococciques :

Le rhumatisme articulaire aigu est devenu très rare dans les pays occidentaux. Il touche surtout l'enfant et donne un tableau de polyarthralgies fébriles, fluxionnaires et migratrices et très rarement de véritables polyarthrites. Le sérodiagnostic sera d'une grande utilité. Le rhumatisme post-streptococcique de l'adulte est très rare.

6-2-3 - Les spondylarthropathies :

Les spondylarthropathies sont les plus fréquents des rhumatismes inflammatoires après la PR et représentent l'un des diagnostics différentiels principaux. Les spondylarthropathies (arthrite réactionnelle, spondylarthrite ankylosante, rhumatisme psoriasique, rhumatisme des entérocolopathies chroniques, spondylarthropathies indifférenciées) peuvent comporter un tableau de rhumatisme inflammatoire périphérique isolé ou associé à des signes d'enthésopathie et/ou d'atteinte pelvi-rachidienne. Il s'agit habituellement d'un tableau d'oligoarthrite ou plus rarement de polyarthrite prédominant sur les grosses articulations, notamment aux membres inférieurs, et de distribution asymétrique. Il faut rechercher à l'interrogatoire, à l'examen clinique mais également dans les antécédents, les autres signes évocateurs de spondylarthropathie et proposer des radiographies des articulations sacro-iliaques.

6-2-4 Les autres rhumatismes inflammatoires :

6-2-4-1 - La pseudo-polyarthrite rhizomélique (PPR) :

Il s'agit du rhumatisme inflammatoire le plus fréquent du sujet âgé chez qui elle représente le diagnostic différentiel principal de la PR puisque, dans cette population, celle-ci a volontiers un début rhizomélique. L'association à des myalgies, l'absence de signes articulaires distaux, l'absence d'anomalie immunologique, l'amélioration spectaculaire des symptômes sous l'effet d'une faible corticothérapie orienteront vers une PPR mais souvent seule l'évolution permettra de trancher définitivement.

6-2-4-2 - La polyarthrite œdémateuse du sujet âgé :

La polyarthrite œdémateuse du sujet âgé ou RS3 PE, parfois associée au gène B7, comporte un œdème des mains et parfois des pieds. L'atteinte paraît intéresser plus les parties molles qui sont fortement tuméfiées que les articulations. Son pronostic est favorable sous corticoïde.

6-2-4-3 - Des rhumatismes inflammatoires plus rares : peuvent parfois être évoqués :

Un rhumatisme inflammatoire paranéoplasique chez un sujet de la cinquantaine ayant une altération de l'état général.

La maladie de Whipple, rare mais trompeuse, pouvant se manifester initialement par une polyarthrite. Les troubles digestifs, les adénopathies pouvant ne survenir que secondairement.

Le purpura rhumatoïde de l'adulte se traduit surtout par des polyarthralgies inflammatoires associées ou non à un syndrome douloureux abdominal, à un purpura des membres inférieurs, à une protéinurie.

Les rhumatismes intermittents dont le rhumatisme palindromique, les arthrites à éosinophiles ou la maladie périodique peuvent donner un tableau de mono, oligo ou polyarthrite mais les accès articulaires sont de courte durée. Le rhumatisme palindromique peut de plus évoluer vers une authentique PR.

La sarcoïdose, la maladie de Behçet ou l'amylose primitive peuvent donner un tableau clinique proche de celui de la PR mais l'atteinte articulaire est exceptionnellement isolée.

6-2-5 Les atteintes articulaires d'origine auto-immune (Les connectivites) :

Certaines connectivites comportent des manifestations articulaires inflammatoires volontiers inaugurales et peuvent donner le change avec une PR.

6-2-5-1-La maladie lupique : est l'un des principaux diagnostics différentiels de la PR, en particulier chez la femme jeune. Il s'agit d'un tableau de polyarthralgies ou plus souvent d'oligo ou de polyarthrite. Les signes articulaires sont pratiquement constants et fréquemment révélateurs. Il convient de rechercher les autres signes de la maladie lupique et, devant tout rhumatisme inflammatoire périphérique, la recherche d'anticorps antinucléaires et en cas de positivité d'anticorps anti-ADN natif et d'anticorps anti-ENA doit être systématique.

6-2-5-1 Syndrome de Gougerot-Sjörger primitif : Est fréquent. Le diagnostic différentiel avec la PR est souvent difficile puisque celle-ci peut également comporter un syndrome secondaire. Les polyarthralgies inflammatoires sont habituelles, de même que la positivité du

FR et la présence d'anticorps antinucléaires. Par contre un tableau de polyarthrite est beaucoup plus rare.

6-2-5-2 Connectivites mixtes : les connectivites mixtes associent un syndrome de Raynaud à des gros doigts boudinés et une polyarthrite pouvant donner le change avec une PR. Du point de vue biologique on trouve des anticorps antinucléaires à titre élevé, avec fluorescence mouchetée des noyaux. Les anticorps anti-RNP, évocateurs, sont constants.

6-2-5-3 Autres connectivites :

La Sclérodémie systémique comporte aussi des signes articulaires évoquant une PR. D'autres connectivites peuvent donner le change. C'est le cas de la **dermatomyosite**, de la **polymyosite**, de certaines vascularites et notamment de la **maladie de Wegener**, la **polychondrite atrophante** et les **cryoglobulinémies**. Le diagnostic de certaines vascularites est grandement facilité depuis quelques années par la recherche des anticorps anti-cytoplasme des granulocytes (ANCA).

6-2-6 Les atteintes articulaires d'origine métaboliques :

6-2-6-1 La goutte polyarticulaire : doit être évoquée chez des terrains prédisposés. Il faudra rechercher un tophus, une hyperuricémie et surtout des microcristaux à l'examen du liquide synovial.

6-2-6-2 La chondrocalcinose : maladie fréquente chez l'adulte après la cinquantaine, quel que soit son sexe. Elle peut être totalement asymptomatique mais elle peut aussi entraîner des arthropathies chroniques ressemblant beaucoup à une PR, ou même de grandes poussées inflammatoires mono ou polyarticulaires fébriles. Le diagnostic est facilité par la radiographie systémique des genoux qui sont intéressés dans 90% des cas même s'ils n'ont jamais été cliniquement atteints (liseré calcique caractéristique). L'étude du liquide synoviale en lumière polarisée montre la présence de microcristaux de pyrophosphate de calcium.

6-2-7 L'arthrose :

L'arthrose érosive, notamment digitale, s'accompagne parfois de poussées congestives simulant une PR. La localisation des atteintes articulaires et les signes radiographiques permettront de corriger le diagnostic.

6-2-8 Fibromyalgies :

C'est un diagnostic d'élimination. Le tableau clinique comporte, sur un fond asthénique et axio-dépressif, des polyarthralgies (sans enflure), un enraidissement matinal et des troubles du sommeil. (3)

7- Le traitement de la PR:

L'objectif thérapeutique est de préserver les articulations et de maintenir le patient dans un schéma de vie habituel, sans induire de profonds changements (arrêts de travail, Immobilisations). (110) L'efficacité du traitement se traduit par une amélioration du Disease Activity Score (DAS), mais également des critères de l'American College of Rheumatology (ACR), ainsi que des principaux signes cliniques. (79).

7-1 – Le traitement symptomatique :

Le traitement antalgique :

L'antalgique le plus utilisé, en dehors des contre indications, est le paracétamol, à la posologie de 3-4g/j. si l'intensité de la douleur est plus marquée, on recourra au tramadol ou à une association de paracétamol à la codéine, au dextropropoxyphène. Les morphiniques ont une place limitée, et seront utilisés pour une courte durée. (42) (41)

Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) :

- **Les inhibiteurs spécifiques de la cyclo-oxygénase de type 2 :**

Arcoxia® est utilisé à la posologie de 30mg/jour à 60mg/jour pour améliorer l'efficacité
Celebrex® est utilisé à la posologie de 200mg répartie en deux prises. Si nécessaire, la dose peut être augmentée ultérieurement à 200 mg deux fois par jour (4) . Les AINS sont administrés en dehors de toutes ces contre indications : patients atteints de troubles cardiaques sévères ou d'antécédents d'accident vasculaire cérébral (AVC), ulcère peptique évolutif ou saignement gastro-intestinal...ect.

Les anti-inflammatoires stéroïdiens:

Par voie locale ou générale (prednisone, prednisolone), sont des puissants anti-inflammatoires, souvent prescrits au cours des PR débutantes ou avérées et dont l'efficacité à court terme sur les signes inflammatoires et la prévention des destructions articulaires.

Son emploi reste limité à cause des effets indésirables bien connus de toute corticothérapie prolongée. (76)

L'infiltration locale de corticoïdes permet d'obtenir une efficacité maximale tout en diminuant le risque d'effets secondaires. Les molécules le plus souvent utilisées sont **le cortivazol (Altim®)** et **la bétaméthasone (Diprostène®)**.

7-2 Les orthèses :

Permettent l'immobilisation des articulations douloureuses lors des crises, diminuant ou limitant les déformations et les douleurs. Les principales orthèses prescrites dans la PR concernent les genoux, les mains, les pieds et la voûte plantaire. En maintenant l'articulation avec une certaine rigidité, elles permettent également au patient d'accomplir à nouveau certains gestes ; de tenir un outil, un ustensile de cuisine et des appareils ménagers...ect. Elles peuvent se porter aussi bien le jour que durant la nuit.

7-3 Le traitement de fond :

Le choix du traitement de fond doit tenir compte des spécificités du patient qui peuvent générer certaines contre-indications.

7-3-1 Le traitement conventionnel :

La molécule de référence est **le méthotrexate**. Les molécules utilisées nécessitent de prendre des précautions d'emploi et génèrent des effets indésirables importants. Ces traitements sont donc soumis à une surveillance régulière.

(110) (79) (47) (12) (60) (113) (103) (40)

DCI	Spécialités	Galénique	Schéma thérapeutique	Mécanisme d'action
Méthotrexate	Novatrex® 2,5 mg	Comprimé	Par palier de 2,5 à 5 mg pendant 4 à 6 semaines, avec un maximum à 25 mg.	Antifolates et antimétaboliques Blocage de la prolifération du pannus synovial Diminue la synthèse de l'interleukine (IL)-1
	Métoject®	Solution injectable	Administration en prise unique hebdomadaire (jour fixe)	
Hydroxychloroquine Sulfate	Plaquenil®	Comprimé	Traitement d'attaque : 2 à 3 cp/jour Traitement d'entretien : 1 à 2 cp/jour	Action anti-inflammatoire et antalgique.
Salazopyrine	Pentasa®	Comprimé	Palier de 500 mg hebdomadaire, dose comprise entre 2 et 3 g	Acide 5-aminosalicylique inhibant la production d'acide arachidonique (action anti-inflammatoire)
Léflunomide	Arava®	Comprimé	Traitement d'attaque : 100 mg/jour Traitement d'entretien : 10 à 20 mg/jour	Immunosuppresseur sélectif inhibant la prolifération des lymphocytes et le processus auto-immun
Ciclosporine	Néoral®	Capsule molle Solution buvable	Dose initiale : 2,5 mg/kg/jour Dose maximale : 5 mg/kg/jour	Inhibe l'activation des lymphocytes T

Tableau 7: Principales molécules utilisées dans le traitement de fond de la PR.

7-2-2 Les Biothérapies : ont comme principal but de cibler très précisément les composantes immunologiques présentes dans la PR, à savoir les cytokines **TNF α** , **l'IL-1**, **l'IL-6**, ainsi que la coopération lymphocytaire B et T ; Leur introduction dans la thérapeutique s'effectue généralement lors d'un échappement thérapeutique aux traitements de fond habituels (méthotrexate, léflunomide...). Elles sont alors associées au traitement de fond afin d'avoir un effet synergique. (Voir tableau 8) (104) (23) (83) (39) (26) (44) (78)

DCI	Spécialités	Galénique	Schéma thérapeutique	Mécanisme d'action	Réponse aux traitements
Étanercept	Enbrel®	Injection sous cutanée. (S/C)	Dose habituelle de 25 mg par semaine, en 2 fois Possibilité d'administrer 50 mg en une fois	une protéine de fusion associant la fraction P75 du récepteur soluble du TNF α avec un fragment Fc d'une <u>IgG1</u> Récepteur soluble du <i>Tumor Necrosis Factor</i> (TNF) α , liaison avec le TNF α et inhibition de son action physiologique	12 semaines de traitement Réduction de 20 % des symptômes
Infliximab	Remicade®	Injection intraveineuse. (IV)	Dose de 3 mg/kg en IV pendant 2 h Perfusions identiques à 2 et 6 semaines, puis toutes les 8 semaines Dose maximale de 7,5 mg/kg avec palier de 1,5 mg/kg	Anticorps (Ac) monoclonal (IgG1) chimérique anti-TNF α Bloque l'action physiologique du TNF α	12 semaines de traitement.
Adalimumab	Humira®	Injection sous cutanée	Dose de 40 mg toutes les 2 semaines	Ac monoclonal (IgG1) humain anti-TNF α Bloque l'action physiologique du TNF α	12 semaines de traitement.
Certolizumab	Cimzia®	Injection sous cutanée.	Injection SC à 200 mg Dose d'attaque : 400 mg semaine 0, puis 2 et 4 Dose d'entretien : 200 mg toutes les 2 semaines	Ac anti TNF α	12 semaines de traitement.
Anakinra	Kineret®	Injection S/C	Administration quotidienne d'une dose de 100 mg	Protéine se fixant sur le récepteur de l'IL-1 Bloque l'action physiologique de l'IL-1	16 semaines de traitement.
Rituximab	Mabthéra®	Injection IV.	Pas en première intention Perfusion IV lente de 1 000 mg	Ac monoclonal (IgG1) chimérique anti-CD20 des lymB Bloque l'activation des lym B	16 à 24 semaines de traitement.
Tocilizumab	Roactemra®	Injection IV.	Posologie recommandée de 8 mg/kg, administrée une fois toutes les 4 semaines	Ac anti-récepteur de l'IL-6) Bloque l'action de l'IL-6, cytokine pro-inflammatoire	12 semaines de traitement.
Abatacept	Orienca®	Injection IV.	Perfusion de 30 min., dose en fonction du poids du patient (de 500 à 1 000 mg), répétée aux semaines 2, 4, puis toutes les 4 semaines	Protéine de fusion (CTLA4-Ig) bloquant la cellule présentant l'antigène aux lymphocytes T Inhibition de l'activation lymphocytaire T	12 semaines de traitement.

Tableau 8 : Principales biothérapies utilisées dans la PR.

II- Objectifs

II- Objectifs :

➤ Objectifs principaux :

1/ Comparer les résultats de notre échantillon de malades atteints de PR avec des témoins sains.

2/ Etablir un profil sérologique et inflammatoire des malades atteints de PR.

➤ Objectifs secondaires :

- Démontrer l'intérêt de la recherche de l'anti CCP₃ dans la prédiction de la maladie dans notre échantillon.
- Evaluer les différentes techniques utilisées dans le diagnostic immunologique.
- Aider le clinicien à argumenter et planifier le suivi du patient.

III-PARTIE PRACTIQUE

III- PARTIE PRATIQUE :

1-Matériels et méthodes :

1-1-Matériel :

-Le matériel biologique : (Les prélèvements)

Il s'agit d'une étude Cas/Témoin rétrospective qui porte sur 130 patients atteints d'une polyarthrite rhumatoïde, recrutés au sein du service de Rhumatologie de l'EPH de Blida (Fabour). Les malades inclus dans notre étude bénéficiant d'un suivi rhumatologique hospitalier et/ou extra-hospitalier.

L'étude est faite au sein de l'unité d'Immunologie de l'unité hospitalo-universitaire HASSIBA BEN BOUALI de BLIDA durant une période de 5 mois (de Novembre 2013 à Mars 2014).

A-Critères d'inclusion :

- ❖ Tout patient atteint de polyarthrite rhumatoïde avec un diagnostic établi selon les critères de l'ACR 1987 (American College of Rheumatology) ou les critères ACR/EULAR 2010 (European League Against Rheumatism) est inclus dans notre étude. Cette inclusion concerne soit les patients hospitalisés au service de Rhumatologie, soit les patients suivis en consultation externe.
- ❖ Des patients suivis dans les services de rééducation fonctionnelle des établissements hospitaliers de Douéra et de Blida.
- ❖ Age du patient retenu pour l'étude: plus de 16 ans.
- ❖ Le patient doit être en possession d'une fiche de renseignements cliniques dûment remplie par le médecin traitant. (Voir Annexe III)

B-Critères d'exclusion :

Les patients dont l'âge est ≤ 16 ans seront exclus de l'étude ainsi que les femmes enceintes atteintes de PR.

- Le matériel non biologique :

❖ Instruments:

1- La centrifugeuse :

Instrument auquel un moteur imprime un mouvement de rotation extrêmement rapide qui produit la séparation de substances de densités différentes tenues en suspension ou en émulsion dans un liquide. (2) (Voir Annexe II)

2- Les pipettes :

On utilise des micropipettes appelées pipettes Pasteur, prélevant des volumes extrêmement faibles. Il existe même des micropipettes électroniques.

Il existe généralement une gamme de modèles selon le volume à pipetter et la précision du prélèvement à effectuer :

- P1000 : permet de pipetter de 200 à 1 000 μ l de solution.
- P200 : permet de pipetter de 20 à 200 μ l.
- P20 : permet de pipetter de 2 à 20 μ l.
- P10 : permet de pipetter de 0,5 à 10 μ l.
- P2 : permet de pipetter de 0,1 à 2 μ l. (101)

3- Les embouts (Voir Annexe II)

4- Les tubes : (Voir Annexe II)

- Tube avec EDTA (Pour FNS)
- Tube avec citrate de sodium (Pour VS)
- Tube sec (Pour CRP-FR-ACCP-FAN)

5- Agitateur (Voir Annexe II)

6- Eppendorf (Voir Annexe II)

❖ Appareillage :

1- Néphélomètre à laser (marque : DADE BEHRING, type : BN PROSPEC) (Voir Annexe II)

-Principe :

Une néphélomètre à laser est utilisé pour la détection de la présence d'antigènes ou d'anticorps et éventuellement le dosage de ceux-ci. (102)

Un rayon laser traverse la cuve contenant d'éventuelles particules du précipité. La diffraction de la lumière par les particules (nephlos= nuage) est mesurée à la sortie. Plus il y a de précipité Ag/Ac plus il y aura de signal sur le photomultiplicateur (appareil qui mesure la

diffraction). La mesure est rapide et automatisée, elle permet un dosage quantitatif. Cette technique permet aussi des mesures d'agglutinats. (13)

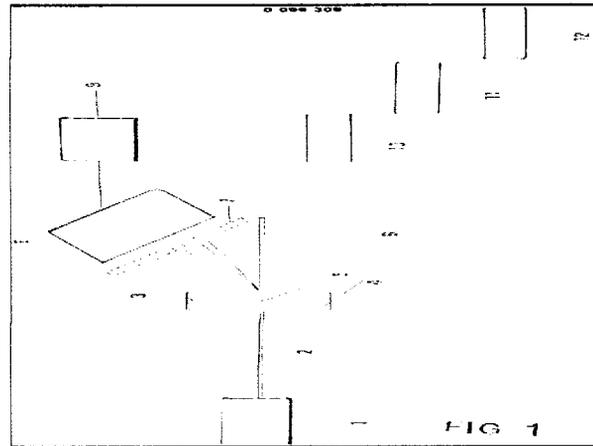


Figure 13: Schéma de la composition d'un néphélomètre à laser. (102)

Néphélomètre à laser, pour la détection des antigènes et des anticorps, comprenant :

Une source lumineuse laser (1) émettant un faisceau étroit (2) ; une cellule de mesure (3) où se trouvent des solutions d'antigènes et d'anticorps à tester ; un détecteur photo-électrique (8) recueillant la lumière diffusée (6) par l'échantillon ; des organes de traitement (9-12) des signaux fournis par le détecteur (8) ;

La cellule de mesure est formée par un tube capillaire (3), le diamètre interne du tube capillaire (3) est voisin du diamètre du faisceau laser (2) ; le faisceau laser (2) est perpendiculaire au tube capillaire (3) et débouche dans ce tube capillaire (3) au voisinage de l'interface de séparation de la solution d'antigènes avec la solution d'anticorps.

Le tube capillaire (3) est un tube cylindrique droit à section régulière dont le diamètre interne est voisin de un millimètre.

Avantage : la consommation de réactif est inférieure à celle de la turbidimétrie avec une sensibilité de 0,5g/l. (102)

2- Microscope à fluorescence (marque : CARLZEISS-JENA, type : JENAMED2). (Voir Annexe II)

3- Lecteur ELISA (marque :DYNEX MAGELLAN BIOSCIENCES, type :MRX^e). (Voir Annexe II)

1-2-Méthodes :

-Bilan inflammatoire :

C'est un bilan biologique qui permet de rechercher des signes biologiques d'une inflammation de l'organisme et d'évaluer l'importance de la réaction inflammatoire. (116)

A- Numération de la formule sanguine ou hémogramme (NFS) :

Principe : C'est la détermination des différentes cellules ainsi que leur numération :

- Globules rouges, globules blancs, plaquettes.
- L'hématocrite, l'hémoglobine.
- Détermination des constantes (indices hématimétriques) VGM, TGMH, CCMH.
- Détermination des sous populations de GB (PN, PE, PB).
- Dans le cas de la PR il s'agit d'une anémie (HB<120g/l femme et<130g/l homme) inflammatoire microcytaire (VGM<80fl) normochrome (CCMH entre 32 et 36g/100ml). (2) (98)

Protocole : (voir Annexe I)

B- Vitesse de sédimentation (VS):

Principe : C'est la mesure de la chute libre des rouleaux de globules rouges dans une colonne d'un sang rendu incoagulable par addition de citrate de sodium. (97)

Protocole : (voir Annexe I)

C- Protéine C réactive (CRP):

-Par la technique d'agglutination (test au latex) :

Principe : C'est un dosage immunologique sur latex mis au point pour une mesure précise et reproductible des taux sanguins de CRP dans le sérum et le plasma. Elle est positive s'il se produit une réaction antigène-anticorps entre la CRP présente dans l'échantillon et l'anticorps anti-CRP qui a été absorbé par les particules de latex. (93)

Dans le cas de la PR : le taux de CRP dépasse souvent 50 mg/L. (97)

Protocole : (voir Annexe I)

-Par la laser néphélométrie :

Principe : Même principe que celui du FR.

Protocole : Technique automatisable.

-Bilan immunologique:

A-Détection du facteur rhumatoïde :

-Par le test au latex :

Principe : Test d'agglutination passive dans lequel l'antigène est absorbé sur les particules de latex qui ensuite s'agrègent en présence de l'anticorps spécifique de l'antigène absorbé.

Dans les cas de PR le FR peut être $>8\text{UI/ml}$. (95)

Protocole : (Voir Annexe I).

-Par le test Waaler rose :

Principe : C'est une technique d'hémagglutination passive utilisant des hématies de mouton recouvertes d'Ig de lapin anti-hématies de mouton. Elle nécessite la réalisation d'un témoin avec des hématies non sensibilisées pour éviter les faux positifs dus aux hétéroanticorps. Le titre obtenu par dilution sur lame ou mieux en microplaque est transformée en UI/ml grâce à un étalon OMS. (92)

Dans les cas de PR le FR est souvent $>08\text{UI/ml}$.

Protocole : (voir Annexe I)

➤ Par la laser néphélométrie :

Principe : Elle est utilisée pour mesurer les concentrations de protéines sériques par immunoprécipitation : le sérum dilué est mis en présence d'un antisérum spécifique et le complexe antigène-anticorps anti-protéine précipite sous forme de fines particules permettant une analyse néphélométrique.

Cette technique consiste à mesurer l'intensité d'un rayonnement laser diffusé à travers un échantillon pour le relier à une concentration. (100)

Protocole : Technique automatisable.

B –Détection et mesure des anticorps anti-CCP3 :

-Par la technique ELISA:

Principe : C'est une technique utilisant un ou deux anticorps. L'un de ceux-ci est spécifique de l'antigène, tandis que l'autre réagit aux complexes immuns (antigène-anticorps) et est couplé à une enzyme. Cet anticorps secondaire, responsable du nom de la

2-Résultats et discussions :

2-1-Données démographiques et descriptives de notre échantillon :

a-Répartition des patients selon les tranches d'âge :

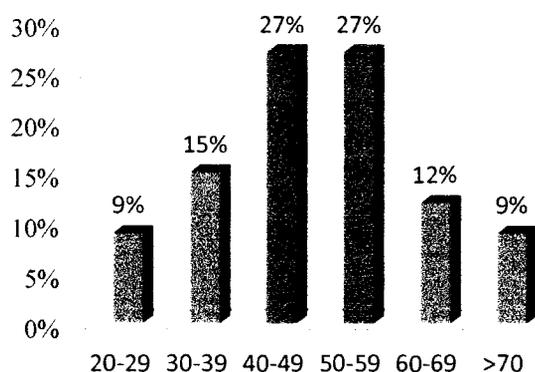


Figure14 : Répartition des patients selon les tranches d'âge.

Notre population est constituée de 130 malades âgés entre 22 et 92 ans avec une moyenne d'âge de 49,56 ans \pm 14,55 et une médiane de 49ans , dont 54% de notre population est âgée entre 40 et 60 ans.

Nos résultats corroborent avec les données de la littérature :

Littérature	Résultats
Mansouri .S (52)	Age moyen= 49,36 \pm 11,56 ans (18-81 ans)
Ora.J (63)	Age moyen= 52,3 ans (21-89 ans)
Hamdi et All. (38)	Age moyen = 52,9 \pm 11,6 ans (17-77 ans)

Ces résultats confirment que la tranche d'âge la plus concernée se situe entre 35 et 55 ans, donc la PR touche le plus souvent l'adulte jeune. (Voir épidémiologie)

b-Répartition des patients selon le sexe :

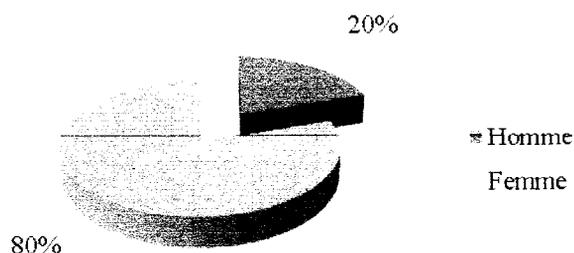


Figure15 : Répartition des patients selon le sexe.

Dans notre série (N=130), 80 % étaient de sexe féminin (104), et 20 % étaient de sexe masculin (26). Soit un sex ratio de 4, ce qui confirme la prédominance féminine chez les sujets atteints de PR.

Nos résultats corroborent les données de la littérature :

Littérature	Résultats
Ora.J (63)	Prédominance féminine de 85%.
Hamdi .W et Al (38)	Prédominance féminine de 87% avec un sex ratio de 6,7
Mansouri .S (52)	Prédominance féminine de 88% avec un sex ratio de 7

En comparant les données de la littérature avec nos résultats, on constate que la PR est à prédominance féminine, ce qui vient confirmer les données déjà citées dans la partie concernant les rappels bibliographiques. (Voir épidémiologie).

c-Répartition des patients selon les valeurs de la VS :

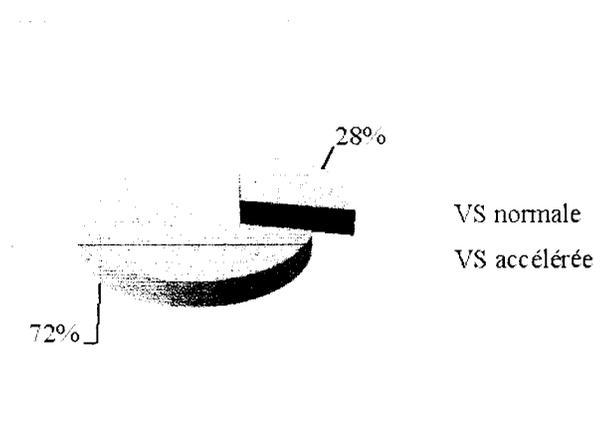


Figure 16 : Répartition des patients selon les valeurs de la VS.

La VS est accélérée chez la plupart de nos patients, ce qui reflète l'état de sévérité de la maladie :

A la 1^{ère} heure : chez 72% des patients.

La valeur moyenne de la VS chez nos patients était $30,75 \text{ mm} \pm 28,4$ à la 1^{ère} heure (2-146), ce qui est corroboré avec les données de la littérature.

Littérature	Résultats
Hamdi.W et Al (38)	$39,45\text{mm} \pm 25,73$ (1-130) chez 100 sujets atteints de PR répondant aux critères de l'ACR 87.
Mansouri .S (52)	$43\text{mm} \pm 29$ (2-128) selon les critères ACR 1987 chez 168 patients (94%), et selon les critères ACR/EULAR 2010 chez 11 patients (6%) pour les PR récentes.

On peut conclure que dans la majorité des cas de PR, la VS est supérieure à la valeur normale ($>10\text{mm}$) ce qui oriente vers le syndrome inflammatoire observé au cours de la PR.

e- Répartition des patients selon les valeurs de la CRP :

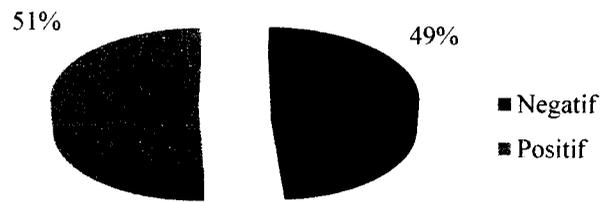


Figure17 : Répartition des patients selon les valeurs de la CRP obtenues par la laser néphélométrie.

Dans notre population (N=127), 51% des patients ont des taux élevés de la CRP. La valeur moyenne de la CRP était de 27,29 mg/l \pm 57,22 (0,15-399 mg/l).

Ces résultats sont en accord avec des études antérieures :

Littérature	Résultats
Hamdi.W et al (38)	Moyenne $_{CRP}$ = 18,6 mg/L \pm 25,48 (3-179)
Mansouri S (52)	moyenne $_{CRP}$ = 32mg/l \pm 44 (1-263)

Nos résultats montrent que la valeur de la CRP au cours de la PR dépasse la normale (>10mg/l).

Les résultats obtenus avec la VS et la CRP nous permettent de considérer ces paramètres comme critère d'orientation au cours de la PR.

f- Répartition des patients selon les valeurs du FR :

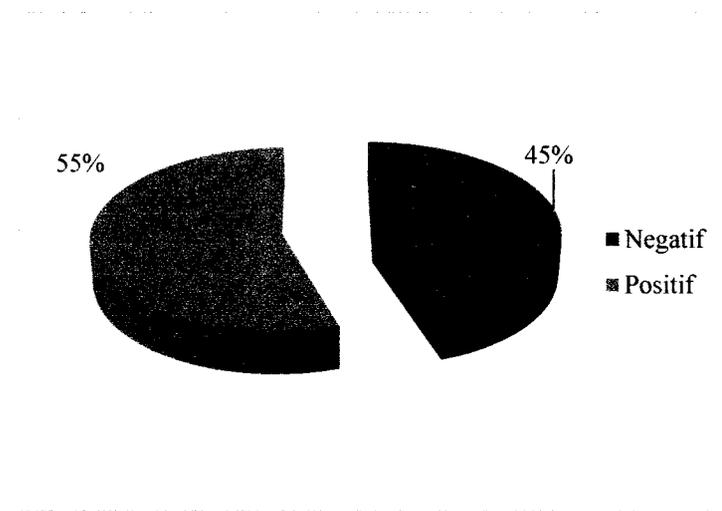


Figure18 : Répartition des patients selon les valeurs du FR obtenues par la laser néphélométrie.

Dans notre série de 130 patients, 71 étaient positifs pour le FR (soit 55%).

La répartition de nos résultats est inférieure à ceux retrouvés dans la littérature :

Littérature	Résultats
Hamdi.W et al (38)	72% séropositifs
Ora .J (63)	76,1% séropositifs
Mansouri.S (52)	83% séropositifs

Ceci peut être expliqué par le manque de sensibilité et spécificité du FR (20), la séronégativité de la PR dans les 2 premières années (117), ainsi que l'impact environnemental (Aires géographiques différentes).

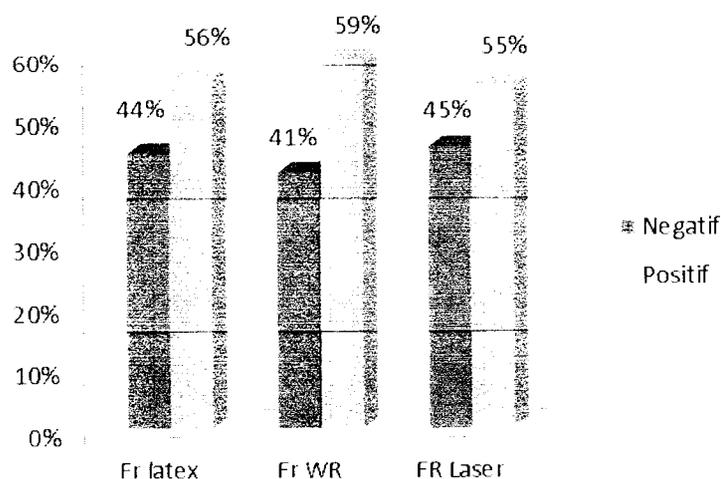


Figure 19 : Répartition des patients selon les valeurs du FR obtenues par les techniques : Agglutination (Latex, Waaler rose) et la laser néphélométrie.

	Néphélomètre à laser		Agglutination			
			Latex		Waalier Rose	
Facteur rhumatoïde	Notre serie	Littérature	Notre serie	Littérature	Notre série	Littérature
Sensibilité	55%	80% (RR)	56%	65-75% (106)	59%	65% (106)
Spécificité	97%	85-95% (RR)	97%	75% (106)	97%	90% (106)

Tableau 9 : Sensibilité et spécificité des méthodes de dosage du FR.

Facteur rhumatoïde	Néphélemetrie à laser	Agglutination		Littérature
		Latex	Waalier Rose	
Valeur prédictive positive	95%	96%	96%	82% (69)
Valeur prédictive négative	63%	96%	65%	78% (69)

Tableau 10 : VPP et VPN du FR.

Dans notre étude le dosage des FR a été effectué selon plusieurs méthodes, révélant la technique de Waaler rose comme étant la plus sensible (Tableau 8), ce qui ne corrobore pas avec les données de la littérature.

Concernant la spécificité, les trois techniques utilisées se sont révélées équivalentes ce qui ne corrobore pas avec les données de la littérature, mais qui fait ressortir une reproductibilité inter-essai appréciable si on tient compte des proportions pratiquement similaires entre les différentes positivités et les différentes négativités des échantillons étudiés.

Cependant, une autre étude sur une plus large échelle et portant sur une plus grande population atteinte de PR s'avère nécessaire pour évaluer la sensibilité et la spécificité des méthodes.

g-Répartition des patients selon les valeurs obtenues en anticorps Anti-CCP :

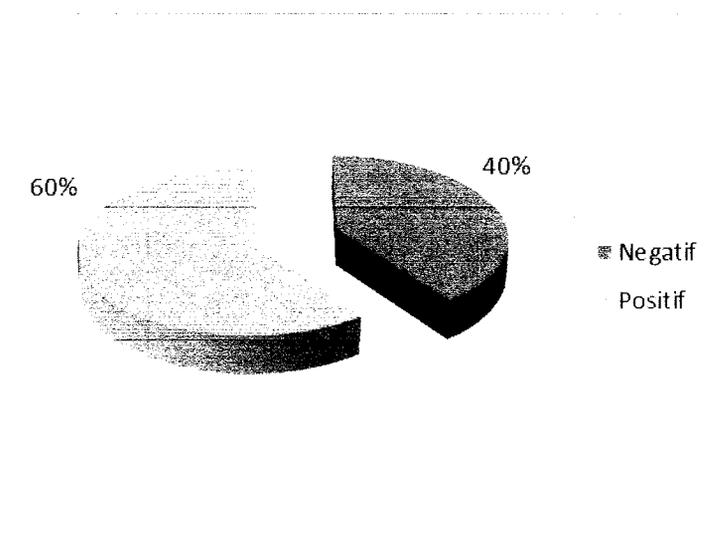


Figure 20: Répartition des patients selon les valeurs obtenues en anticorps Anti-CCP.

Dans notre étude, sur les 130 patients, 60% se sont révélés positifs en anticorps Anti-CCP, ce qui corrobore avec les données de la littérature citées ci dessous :

Littérature	Résultats
Hamdi.W et al (38)	51%
Ora.J (63)	58,1%
Mansouri.S (52)	75,5%

Détection des anticorps Anti-CCP	Technique utilisée: ELISA	Littérature
Sensibilité	77%	69- 82% (54)
Spécificité	100%	>95% (64)
VPP	100%	84% (86)
VPN	67%	81% (86)

Tableau 11 : Sensibilité et spécificité du test ELISA pour la recherche des anticorps Anti-CCP.

Dans notre étude, des kits d'anti-CCP de 3eme génération ont été utilisés. Les évaluations sur la sensibilité et la spécificité retrouvées corroborent avec les mêmes valeurs que celles citées dans la littérature.

h-Répartition des patients selon les résultats obtenus en facteurs anti-nucléaires (FAN) :

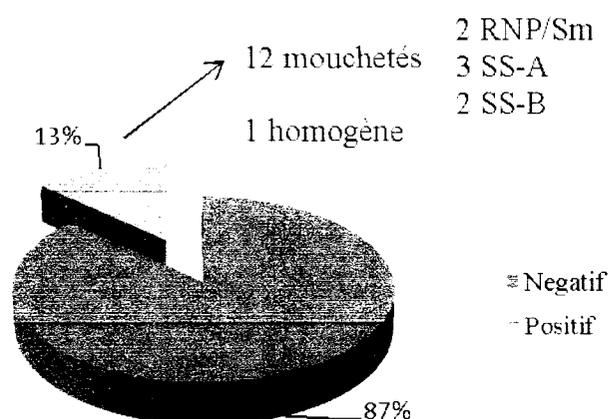


Figure 21 : Répartition des patients selon les facteurs anti-nucléaires (FAN).

16 patients soit 13% (N=130) se sont révélés positifs en facteurs anti-nucléaires. Parmi eux 12 présentent un aspect moucheté (Soit 75%) et 1 seul patient présente un aspect homogène (soit 6%). Pour trois patients restant, la détection des facteurs anti-nucléaires n'a pas été effectuée.

Nos résultats corroborent avec ceux de la littérature (15-30% de FAN positifs) (35)

2-Corrélation : DAS 28,VS, CRP, Anti-CCP,FR

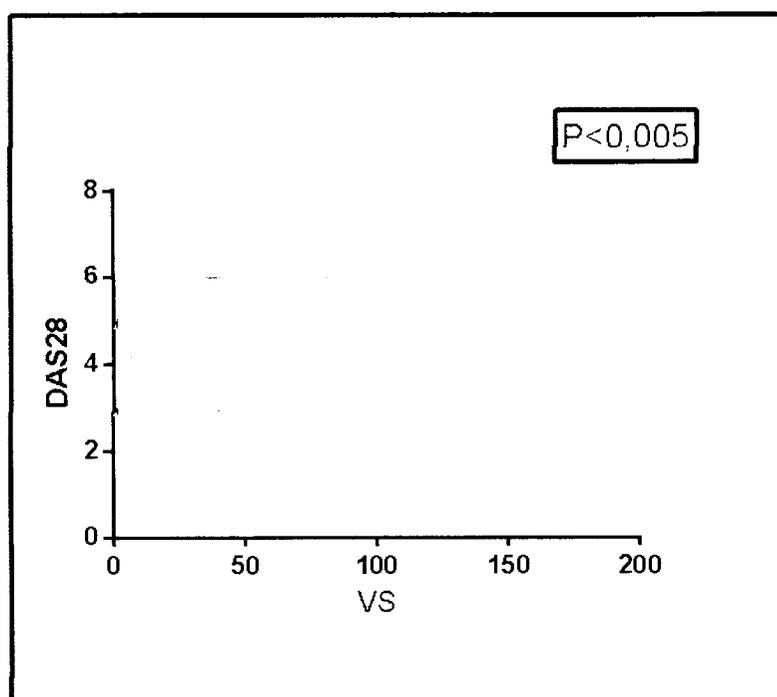


Figure 22 : Répartition des patients selon le score DAS 28-VS.

Il y a une corrélation entre le DAS 28 et la VS ($P < 0,005$), ce qui corrobore avec les données de la littérature rapportées dans l'étude effectuée par Smolen JS et al. (73)

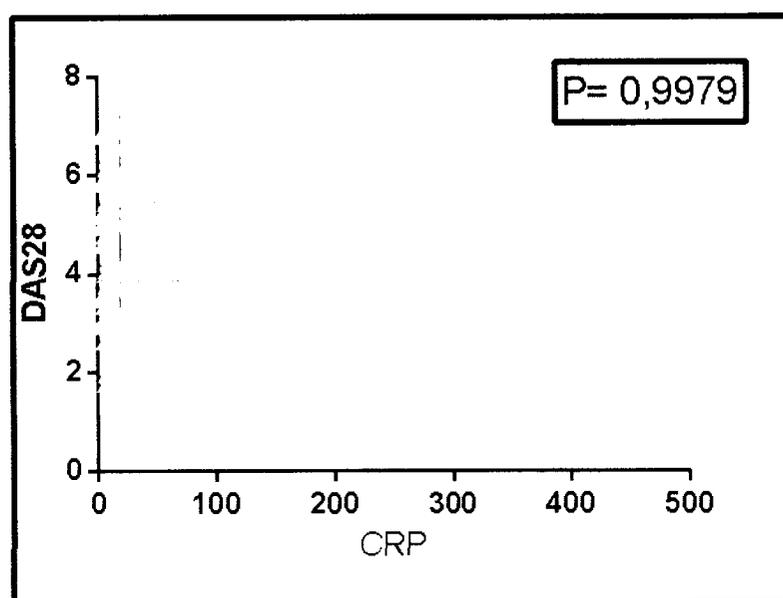


Figure 23 : Répartition des patients selon le score DAS28 -CRP

Il n'y a pas de corrélation entre le DAS28 et la CRP ($P = 0,9979$), ce qui corrobore avec les données de la littérature selon une étude antérieure. (Smolen JS, Aletaha D) (73)

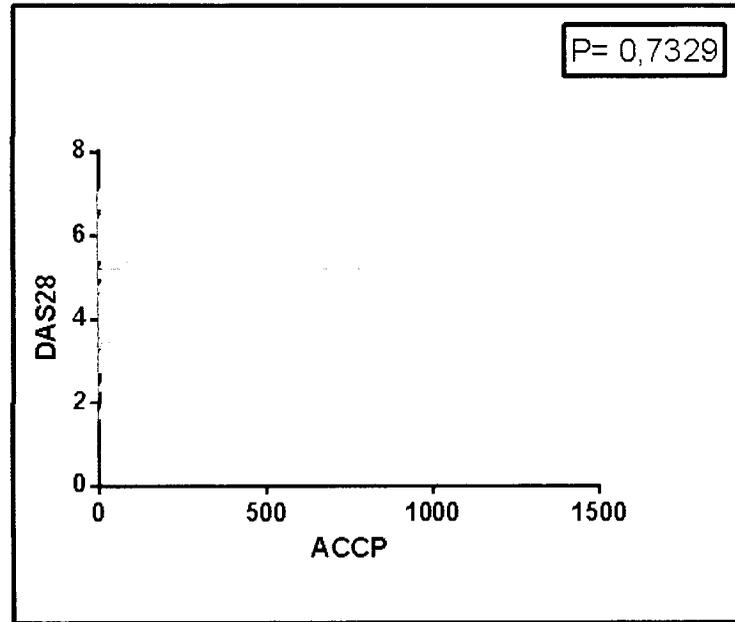


Figure 24 : Répartition des patients selon le score DAS28-Anti-CCP

Il n'y a pas de corrélation entre le DAS28 et l'Anti-CCP ($P=0,7329$), aucune étude n'a démontré le contraire.

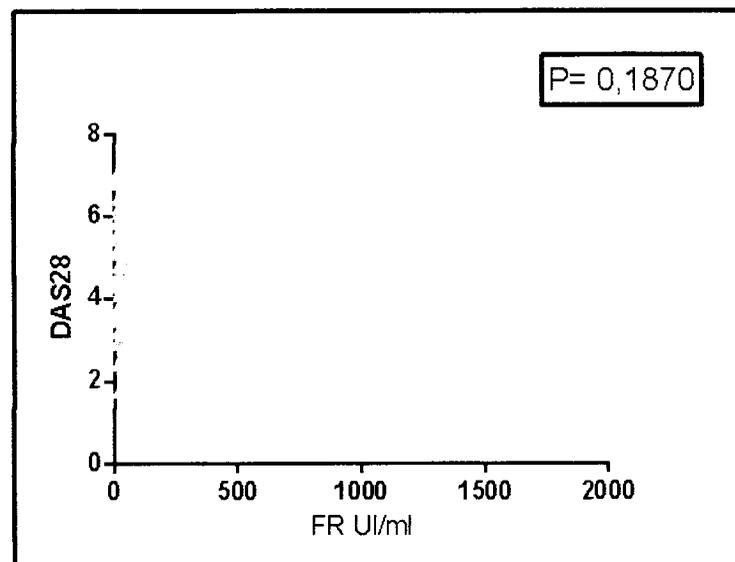


Figure 25 : Répartition des patients selon le score DAS28-FR

Il n'y a pas de corrélation entre le DAS 28 et le FR ($P=0,1870$), aucune étude n'a démontré le contraire.

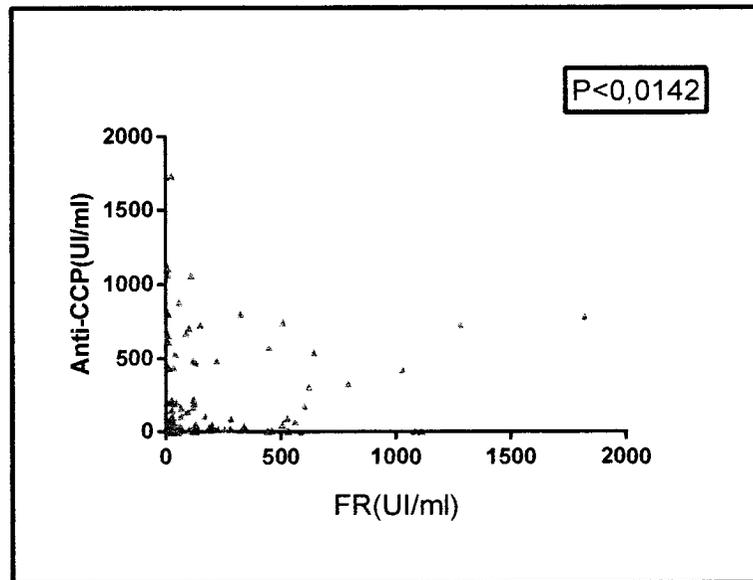


Figure 26 : Répartition des patients selon le score FR-Anti-CCP.

Il y a une corrélation entre l'Anti-CCP et le FR ($P < 0,0142$) ce qui ne corrobore pas avec l'étude faite par Farid Benkhada et al. (14)

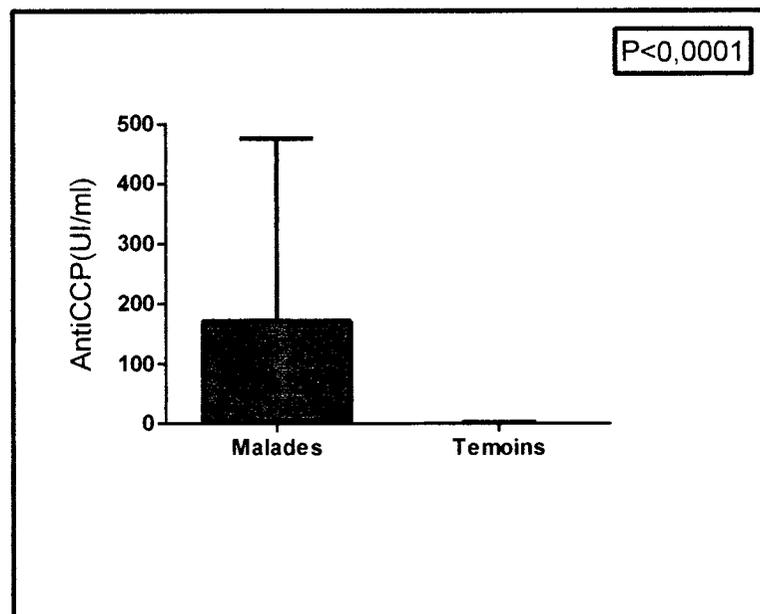


Figure 27 : Comparaison de l'Anti-CCP chez les malades et les témoins.

Le taux de l'Anti-CCP est significativement élevé chez les patients comparativement aux témoins (Anti-CCP_{moy} : $171,9 \pm 26,89$ vs $1,212 \pm 0,05905$ UI/ml, $P < 0,0001$ respectivement)

Ce qui corrobore avec les données d'une étude qui a montré une grande spécificité allant de 93 à 98 %. (59)

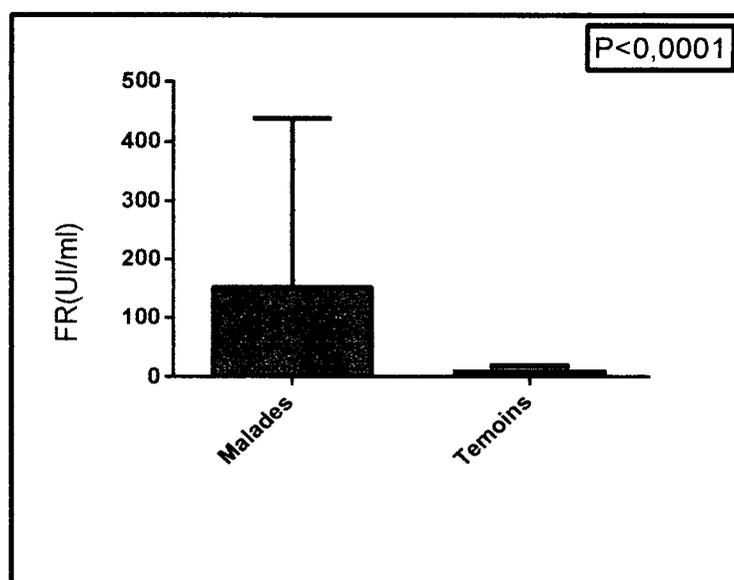


Figure 28 : Comparaison des taux du FR chez les patients et les témoins.

Le taux du FR est significativement élevé chez les malades comparativement aux témoins (FR_{moy} : 152,23± 25,22 vs 16,63± 0,2118 UI/ml, P<0,0001 respectivement). Ce qui corrobore avec les données d'une étude antérieure dont la sensibilité du test varie également en fonction du stade de la maladie, et cette sensibilité est faible au stade précoce. Cependant, même si les FR ne sont pas spécifiques de la PR, leur recherche et quantification restent utiles pour la prise en charge d'un rhumatisme inflammatoire. (59).

Conclusion

Conclusion :

Notre étude, a permis de mettre en lumière le profil sérologique et inflammatoire de la PR, ainsi d'évaluer son intérêt dans le suivi de la maladie.

Le bilan biologique des malades atteints d'une PR était un acteur majeur dans notre travail, il repose d'une part sur les tests non spécifiques qui mesurent l'inflammation et d'autre part sur la mise en évidence d'auto-anticorps : les facteurs rhumatoïdes et les anticorps anti-peptides cycliques ou protéines citrullinées, par le biais de différentes méthodes de dosage.

Aujourd'hui, tous les professionnels s'accordent à dire qu'un diagnostic et un traitement les plus précoces possibles ralentissent grandement l'évolution de la maladie et améliorent significativement la qualité de vie des patients, ainsi il est nécessaire d'harmoniser nos méthodes de dosages et d'utiliser celles qui ont fait la preuve de leurs performances.

Un travail important reste à faire pour développer de nouvelles approches diagnostiques et thérapeutiques permettant de prescrire le traitement adéquat, au moment opportun aux patients.

Nos perspectives est de lancer des projets de grande envergure qui semblent être nécessaires, pour avoir une meilleure évaluation et clarification des contradictions observées dans les résultats, pour cela le développement passe impérativement par la réalisation d'une méta-analyses avec une plus grande échelle.

Références bibliographiques :

Ouvrages :

- (1) Cl. Audigé. G.Dupont. F.Zonszain. Principe des méthodes d'analyse biochimiques Tome02. Doin Editeurs. 1992 . Pages 22-23.
- (2) Larousse médical. Edition 2006.
- (3) Jacques Sany .Polyarthrite de l'adulte, Conception actuelle. Edition John Libbey Eurotext. 2003. Pages 11-12- 121.
- (4) Le Vidal 2011.

Articles :

- (5) André Chantal, Batteux Frédéric, Desplat-Jego Sophie, Dragon-Durey Marie Agnès, Dubucquoi Sylvain, Gorochoy Guy, Prin Lionel.Mécanismes physiopathologiques de l'auto-immunité. Cours d'immunologie. Université Lyon I.
- (6) Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, et al. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 1988 ; 31(3) : 315-24.
- (7) Atouf O, Benbouazza K, Brick C, Bzami F, Bennani N, Amine B, et al. HLA polymorphism and early rheumatoid arthritis in the Moroccan population. *Joint BoneSpine* 2008;75:554-8.
- (8) Avouac J, Uzan G, Kahan A, Boileau C, Allanore Y. Endothelial progenitor cells and rheumatic disorders. *Joint Bone Spine* 2008;75:131-7.
- (9) Banerjee A, Gerondakis S. Coordinating TLR activated signaling pathways in cells of the immune system. *Immunol Cell Biol*2007;85:420-4.
- (10) Bang S.Y, Lee K.H, Cho S.K, Lee H.S, Lee K.W, Bae S.C. Smoking increases rheumatoid arthritis susceptibility in individuals carrying the HLA-DBR1 shared epitope, regardless of rheumatoid factor or anti-cyclic citrullinated peptide antibody status. *Arthritis Rheum.* 2010, 62, (2), p.369-377.
- (11) Barnetche Thomas .Enjeux méthodologiques de l'analyse de marqueurs génétiques dans les études d'association de maladies multifactorielles : application à la polyarthrite rhumatoïde : Thèse de doctorat d'université. 2007,p 36
- (12) Bathon JM, McMahon DJ. Making rational treatment decisions in rheumatoid arthritis when methotrexate fails. *N Engl J Med.*2013;369:384-5.
- (13) Pr Bene. Pr Faure. Stage d'immunologie formation continue Nancy Metz. 1998. Laboratoire d'immunologie, Faculté de medecine BP184.
- (14) Benkheda Farid - Humbel Rene Louis .Anticorps anti-protéines/peptides citrullinés dans la PR. Laboratoire Luxembourgeois d'immunologie « LLIP ».
- (15) Berglin E, Kokkonen H, Einarsdottir E, Agren A, RantapaaDahlqvist S. Influence of female hormonal factors, in relation to autoantibodies and genetic markers, on the development of rheumatoid arthritis in northern Sweden: a case-control study. *Scand J Rheumatol.* 2010; 39:454-60.

- (16) Biver Emmanuel, Beague Véronique, Verloop David, Mollet Dominique, Lajugie Dominique, Baudens Guy, Neirinck Patrick, Flipo René Marc. Une prévalence faible et stable de la polyarthrite rhumatoïde dans le Nord Pas de Calais, une singularité régionale en France et en Europe ? *Revue du rhumatisme* .2009;76 : 869-872.
- (17) Boissier MC, Assier E, Falgarone G, Bessis N. Du déséquilibre de la balance Th1–Th2 à celui de la balance Th17-Treg : évolution du paradigme de la polyarthrite rhumatoïde. *Rev Rhum* . 2008;75:555-7.
- (18) Brentano F, Kyburz D, Schorr O, Gay R, Gay S. The role of Toll like receptor signalling in the pathogenesis of arthritis. *Cell Immunol*. 2005;233:90-6.
- (19) Champy V, Mitrović D, Collin P, Lomri A. Radicaux libres dérivés de l'oxygène et superoxydesdismutases: rôle dans les maladies rhumatismales. *Rev Rhum*. 2007;74:636-43.
- (20) COMBE Bernard: POLYARTHRITE RHUMATOÏDE : CLINIQUE ET DIAGNOSTIC. Service d'Immuno-Rhumatologie, CHU Lapeyronie 34295 MONTPELLIER cedex. Etudes approfondies des polyarthrites et maladies systémiques, 2009.
- (21) Constant. E, Dysfonctions articulaires : arthrite et arthrose , CCA rhumatologie CHU Saint Etienne.2009.
- (22) Cantagrel Alain et Constantin Arnaud. Membrane synoviale : de la physiologie à l'inflammation rhumatoïde. Implications thérapeutiques. Centre de Rhumatologie, hôpital Purpan, Toulouse . 2013
- (23) Cohen G, Courvoisier N, Cohen JD et al. The efficiency of switching from infliximab to etanercept and vice-versa in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol*.2005;23:795-800.
- (24) Costenbader K.H, Feskanich D, Mandl L.A, Karlson E.W. Smoking intensity, duration, and cessation, and the risk of rheumatoid arthritis in women. *Am J Med*. 2006, 119, (6), p.503.e1-9.
- (25) Di W, Chang Y, Wu YJ, Wei W. Sheng Li KeXue Jin Zhan. Research progress on B cell surface molecules targeted therapy in rheumatoid arthritis. *Review Chinese*. 2011 ;42(3):175-80.
- (26) Donahue KE, Jonas DE, Hansen RA et al. Drug therapy for rheumatoid arthritis in adults: An update. Rockville (MD): Agency for Healthcare Research and Quality (US); 2012.
- (27) Dubucquoi S, Fily-Nalewajk S. Prise en charge de la polyarthrite rhumatoïde en 2008: la biologie peut-elle répondre aux attentes d'un clinicien? *Revue Francophone des Laboratoires*, 2008 ; 404 : p51-56.
- (28) Essakalli M, Brick C, Bennani N, Benseffaj N, Ouadghiri S, Atouf O. Le lymphocyte TH17 dernier-né de la famille des lymphocytes T CD4+. *Pathol Biol*2009;doi:10.1016/j.patbio.2009.01.001.
- (29) Essakalli M, Atouf O, Bennani N, Benseffaj N, Ouadghiri S, Brick C. Toll Like receptor. *Pathol Biol (Paris)*.2009 JUL; 57 (5):4308 doi:10.1016/j.patbio.2008.04.003.Epub2008 May 2009.
- (30) Fex E, Jonsson K, Johnson U, Eberhardt K. Development of radiographic damage during the first 5-6 yr of rheumatoid arthritis. A prospective follow up study of a Swedish cohort. *Br J Rheumatol*. 1996 ; 35 (11) : 1106-15.
- (31) Firestein GS. Immunologic mechanisms in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *J Clin Rheum* 2005;11(3):S39-S44.
- (32) Fournier C. Que reste-t-il du lymphocyte T dans la polyarthrite rhumatoïde? *Rev Rhum* 2005;72:290-6.
- (33) Fuchs HA, Kaye JJ, Callahan LF, Nance EP, Pincus T. Evidence of significant radiologic erosions in rheumatoid arthritis within the first 2 years of disease. *J Rheum*. 1989 ; 16 : 585-91.

- (34) Furuzawa-Carballeda J, Vargas-Rojas MI, Cabral AR. Autoimmune inflammation from the Th17 perspective. *AutoimmunRev* 2007;6:169-75.
- (35) Goetz Joelle. Conduite à tenir devant la mise en évidence d'anticorps antinucléaires sur Hep2. *Revue Francophone des laboratoires - JUILLET/AOUT 2012- N°444*. Pages 7-8.
- (36) Gottenberg Jacques-Eric - Mariette Xavier . *Le lymphocyte b : de la théorie à la pratique- Hôpital Bicêtre, Université Paris-Sud 11 Hôpital Bicêtre, Université Paris-Sud 11 .L' immunopathologie pour le clinicien.p 8*
- (37) Griffiths RH. Is the generation of neo-antigenic determinants by free radicals central to the development of autoimmune rheumatoid disease? *AutoimmunRev* 2008;7:544-9.
- (38) Hamdi. W, Ne'ji .O, Ghannouchi. M.M, Kaffel.D, Kchir.M Étude comparative des indices d'évaluation de l'activité de la polyarthrite rhumatoïde Department of Rheumatology, Institute Mohamed Kassab, Faculty of Medicine of Tunis, University Tunis El Manar, Ksar Said, Manouba, Tunis, Tunisia Received 19 January 2011; accepted 8 September 2011
- (39) Idfi eld V, Dhillon S, Plosker GL. Tocilizumab: a review of its use in the management of rheumatoid arthritis. *Drugs*. 2009;69:609-32.
- (40) Jansen G, van der Heijden J, Oerlemans R et al. Sulfasalazine is a potent inhibitor of the reduced folate carrier: implications for combination therapies with methotrexate in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2004;50:2130-9.
- (41) Kalso E, Edwards JE, Moore A. Opioids in chronic non-cancer pain: systematic review of efficacy and safety. *Pain*, 2004, 112: 372-380) 29 :le Vidal 2011.
- (42) Kehlet H, Werner MU. Role of paracetamol in acute pain management. *Drugs*, 2003, 63: 15-21
- (43) Kesmarky G, Kenyeres P, Rabai M, Toth K, Plasma viscosity: a forgotten variable *Clin Hemorheol Microcirc*, 2008;39:243-6.
- (44) Keystone EC, Cohen SB, Emery P et al. Multiple courses of rituximab produce sustained clinical and radiographic efficacy and safety in patients with rheumatoid arthritis and an inadequate response to 1 or more tumor necrosis factor inhibitors: 5-year data from the REFLEX study. *Rheumatol*.2012;39:2238-46.
- (45) Kitamoto Y, Nakamura E, Tokunaga H, Murakami I, Imamura T. Thrombin in synovial fluid as a marker of synovial inflammation: A definite measurement by ELISA and correlation with VEGF. *ClinChimActa* 2008;398:159-60.
- (46) Klareskog L, Catrina AI, Paget S. Rheumatoid arthritis. *Lancet*2009;373:659-72.
- (47) Koike T, Harigai M, Inokuma S et al. Safety and effectiveness of 6 months' etanercept monotherapy and combination therapy in japanese patients with rheumatoid arthritis: Effect of concomitant diseasemodifying antirheumatic drugs. *J Rheumatol*. 2013 Oct;40(10):1658-68.
- (48) Langenger Med Thomas .Association Suisse des polyarthritiques. Zuger Kantonsspital, Landhausstrasse 11, 6340 Baar.
- (49) Lemoine François, Lebranchu Yvon, Boyer Olivier, Béné Marie Christine, Taoufik Yacine Immunité adaptative : Lymphocytes T régulateurs et notion de tolérance.
- (50) Lubberts E. IL-17/Th17 targeting: On the road to prevent chronicdestructive arthritis? *Cytokine* 2008;41:84-9.
- (51) Madrenas J, Potter P, Cairns E, Giving credit where credit is due : John Hunter and the discovery of erythrocyte sedimentation rate [archive], *Lancet*, 2005;366:2140-2141

- (52) Mansouri Samia, Prévalence du syndrome métabolique au cours de la PR et son association avec l'activité de la maladie. Mémoire de fin de cursus post gradué. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah Faculté de médecine et de pharmacie Fès. Juin 2013.
- (53) McCarty DJ. Suppress rheumatoid inflammation early and leave the pyramid to the egyptians. *J Rheumatol.* 1990 ; 17 : 1115-8.
- (54) Mittermayer S et al. : A comparison of the frequency of autoantibodies to cyclic citrullinated peptides using a third generation CCP assay (CCP3) in systemic sclerosis, primary biliary cirrhosis and rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol* June 15, e-pub ahead of print (2007).
- (55) Morel J, Miossec P, Combe B. Immunopathologie de la polyarthrite rhumatoïde. EMC -Rhumatologie -Orthopédie, Vol 1 ,Elsevier 2004, p218-230.
- (56) Morel Jaque et Combe Bernard. Polyarthrite rhumatoïde .Service d'immuno-Rhumatologie, CHU Lapeyronie 34295 Montpellier Cedex5. 2003.
- (57) Mottonen T, Paimela L, Ahonen J, Helve T, Hannonen P, Leirisalo-Repo M. Outcome in patients with early rheumatoid arthritis.
- (58) Murphy et coll. Stem cell therapy in a caprine model of osteoarthritis. *Arthritis Rheum.* 2003 Dec ; 48(12): 3464-74. = Inserm : institut national de la santé et de la recherche médicale)
- (59) Musset. L, Ghillani-Dalbin P. La PR : Apport de la biologie au diagnostique et au suivi thérapeutique .Laboratoire d'immunochimie et auto-immunité, département d'immunologie, groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière/C. Foix,AP—HP, 47, boulevard de l'Hôpital, 75651 Paris cedex 13, France. 2013.
- (60) O'Dell JR, Mikuls TR, Taylor TH et al.; CSP 551 RACAT Investigators. Therapies for active rheumatoid arthritis after methotrexate failure. *N Engl J Med.* 2013;369:307-18.
- (61) Okumura N, Haneishi A, Terasawa F. Citrullinated fibrinogen shows defects in FPA and FPB release and fibrin polymerization catalyzed by thrombin. *ClinChimActa* 2009;401:119-23.
- (62) Ouyang W, Kolls JK, Zheng Y. The biological functions of T Helper 17 cell effector cytokines in inflammation. *Immunity* 2008;28:454-67.
- (63) Ora Jeremy, Corrélation entre Disease Activity Index (DAS)28-Vitesse de sédimentation et le DAS 28-C-réactive protéine, et importance du DAS 28 dans la stratégie thérapeutique, Université Paris Val-De-Marne 2008.
- (64) Jean-Jacques Perrier. Le dosage des anticorps anti protéines citrullinées : Intérêt pour le diagnostic et le pronostic de la PR. *SPECTRA BIOLOGIE* n° 150 • Janvier-février-mars 2006. Page 17.
- (65) Piccirillo CA. Regulatory T cells in health and disease. *Cytokine*2008;43:395-401.
- (66) Pratt AG, Isaacs JD, Matvey DL. Current concepts in the pathogenesis of early rheumatoid arthritis. *Best Pract Res Cl Rh* 2009;23:37-48.
- (67) Rutella S, De Cristofaro R, Ferraccioli G. Function and dysfunction of dendritic cells in autoimmune rheumatic diseases.*Hum. Immunol*2009;10.1016/j. humimm. 2009.01.023.
- (68) Santolaria Thibault .Induction de tolérance aux allogreffes d'organes solides par les lymphocytes T régulateurs CD4+ CD25+ FOXP3+ : 2009, p 54).
- (69) Saraux et All.2002. Pertinence des tests biologiques (+/- cliniques) pour le diagnostic de PR.

- (70) Sebbag M, Chapuy-Regaud S, Auger I, Petit-Teixeira E, Clavel C, Nogueira L, et al. Intérêt clinique et rôle physiopathologique de la réponse auto-immune contre les protéines citrullinées dans la polyarthrite rhumatoïde. *Rev Rhum* 2004;71:872-82.
- (71) Sharp JT, Wolfe F, Mitchell DM, Bloch DA. The progression of erosion and joint space narrowing scores in rheumatoid arthritis during the first twenty-five years of disease. *Arthritis Rheum.* 1991 ; 34 : 660-8.
- (72) Sibilia J, Gottenberg JE, Mariette X. Le rituximab : une nouvelle possibilité thérapeutique dans la polyarthrite rhumatoïde. *Rev Rhum*2008;75:782-9.
- (73) Smolen JS, Aletaha D. Activity assessments in rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol* 2008 ; 20 :306-13.
- (74) Stolt P, Bengtsson B, Nordmark S, Lindblad I, Lundberg L, Klareskog L, Alfredsson et al. Quantification of the influence of cigarette smoking on rheumatoid arthritis: results from a population based case-control study, using incident cases. *Ann Rheum Dis.* 2003, 62, (9).835-841.
- (75) Sugiyama D, Nishimura K, Tamaki G, Tsuji T, Nakazawa A, Morinobu S, Kumagai Impact of smoking as a risk factor for developing rheumatoid arthritis: a meta-analysis of observational studies. *Ann Rheum Dis.* 2010, 69, (1).70-81.
- (76) Svensson B, Boonen A, Albertsson K, Van der Heijde D, Hafström I. Low dose prednisolone in addition for the initial disease modifying antirheumatic drug in patients with early active Rheumatoid arthritis reduces joint destruction and increases the remission rate. *Arthritis Rheum* 2005;52:3360–70)
- (77) Szekanecz Z, Koch AE. Angiogenesis and its targeting in rheumatoid arthritis, *Vasc Pharm* 2009; doi:10.1016/j.vph.2009.02.002.
- (78) Takeuchi T, Tanaka Y, Kaneko Y et al. Effectiveness and safety of adalimumab in Japanese patients with rheumatoid arthritis: retrospective analyses of data collected during the first year of adalimumab treatment in routine clinical practice (HARMONY study). *Mod Rheumatol.* 2012;22:327-38.
- (79) Tian H, Cronstein BN. Understanding the mechanisms of action of methotrexate. Implications for the treatment of rheumatoid arthritis. *Bull NYU Hosp Jt Dis.* 2007;65:168-73.
- (80) Toyosina H, Kusaba T, Yamaguchi M, Cause of death in autopsied RA patients , *Ryumachi* 1993 ;33 : 209-14.
- (81) Tran CN, Lundy S, Fox DA. Synovial biology and T cells in rheumatoid arthritis. *PatholPhysiol* 2005;12:183-9.
- (82) Wilske, 1989:Wilske KR, Healey LA. Remodeling the pyramid-a concept whose time has gone. *J Rheumatol.* 1989 ; 16 (5) : 565-7.
- (83) Yazici Y, Curtis JR, Ince A et al. Efficacy of tocilizumab in patients with moderate to severe active rheumatoid arthritis and a previous inadequate response to disease-modifying antirheumatic drugs: the ROSE study. *Ann Rheum Dis.* 2012;71:198-205.
- (84) Yeo L, Toellner KM, Salmon M et al. Cytokine mRNA profiling identifies B cells as a major source of RANKL in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*2011;70:2022-8.
- (85) Youlnou et Humbel, Communication : Les marqueurs de la Polyarthrite rhumatoïde. *JIB* Novembre 1999 - MAJ 2007.

Les sites internet :

- (86) http://www.acorata.ch/bibliotheque/poly_autoimmunité_musset/poly_autoimmunité.htm<http://www.md.ucl.ac.be/loumed/CD/DATA/119/S361-365.PDF>
- (87) <http://www.ameli-sante.fr/hallux-valgus-oignon/symptomes-hallux-valgus.html>
- (88) [www.amp.ma/actualite_detail.php?id=79.](http://www.amp.ma/actualite_detail.php?id=79)

- (89) <http://annals.org/article.aspx?articleid=700372>.
- (90) www.assim.refer.org. Miossec. P. La Polyarthrite Rhumatoïde (en ligne) Page consultée le 10/12/2009.
- (91) http://www.biomnis.com/referentiel/liendoc/precis/AC_ANTI-PROTEINES_PEPTIDES_CITRULLINES.pdf
- (92) http://www.biomnis.com/referentiel/liendoc/precis/FACTEURS_RHUMATOIDES.pdf.
- (93) www.BiologieNordUnilabs.com
- (94) <http://www.carenity.com/pathologies/polyarthrite-rhumatoide/definition-de-la-polyarthrite-rhumatoide>
- (95) <http://www.chu-rouen.fr/page/mesh-descripteur/tests-au-latex>
- (96) <http://www.dermis.net/dermisroot/fr/39368/image.htm>
- (97) <http://devsante.org/base-documentaire/vitesse-de-sedimentation-et-crp-0>
- (98) <https://facmed.univrennes1.fr/resped/hemato/CC/fr/dossiers/anemiesf/html/sheetsf.htm>
- (99) http://fr.wikipedia.org/wiki/M%C3%A9thode_immuno-enzymatique_ELISA
- (100) <http://fr.wikipedia.org/wiki/Néphélométrie>
- (101) http://fr.wikipedia.org/wiki/Pipette_automatique
- (102) <http://www.google.com/patents/EP0099309A2?cl=fr>
- (103) www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/ct_5036_salazopyrine.pdf. Commission de la transparence. Avis du 24 octobre 2007
- (104) www.humirapro.com/Rheumatology/TreatingERA.aspx. Early Moderate to Severe Rheumatoid Arthritis (RA).
- (105) <http://www.info-radiologie.ch/polyarthrite-main.php>.
- (106) <http://laboratoire.biomedica.fr/imgmaj/4/lettrebiomedica-5-avril-2012.pdf>
- (107) http://www.labtestsonline.fr/condition/Condition_Anemia.html
- (108) LES MALADIES AUTO IMMUNES
roneosimmuno.free.fr/LES_MALADIES_AUTO_IMMUNES.doc. Cours du 4 mars 2008
- (109) www.medecine.ups-tlse.fr/DCEM2/module8/item121/texte11.htm
- (110) www.pfizer.ca/fr/our_products/products/monograph/280. Pfizer. Monographie de méthotrexate. Avril 2013
- (111) www.pharmaetudes.com. ressource cours internat
- (112) <http://www.polyarthrite-andar.com/article202.html>
- (113) <http://products.sanofi.ca/fr/arava.pdf>. Sanofi -Aventis. Monographie d'Arava®.
- (114) <http://www.revuedesante.com/Article/polyarthrite-rhumatoide-539.html>
- (115) <http://www.rhumato.info/fiches-pratiques2/161-polyarthrite-rhumatoide/1645-nouvcrptrles-nouveaux-critères-de-diagnostic-dune-polyarthrite-rhumatoide-debutante-acreular>.
- (116) <http://www.sante.public.lu/fr/maladies-traitements/020-examens/bilans-biologiques/bilan-une-inflammation/>
- (117) <http://umvf.univ.nantes.fr/rhumatologie/enseignement/rhumato16/site/html/cours.pdf> (Item 121 PR (Coffer: Collège français des enseignants en Rhumatologie 2010/2011.)
- (118) www.univ-Paris13.fr/li2p. Physiopathologie, cibles et thérapies de la polyarthrite rhumatoïde.
- (119) www.univ-Tlemcen.dz. Université Abou Bakr Belkaid Faculté de médecine. Polyarthrite rhumatoïde. Etude clinique et épidémiologique. Ghomari M.B, Pr Meguenni, Dr Chabni.

Annexes:

Plan des annexes:

Annexe I: Protocoles.

1-Vitesse de sédimentation (VS).

2-Recherche des facteurs rhumatoïdes (FR)

-Test au Latex.

-Réaction de Waaler rose.

3-Détermination de la protéine C réactive (CRP).

-Test au latex.

4- Recherche des auto-anticorps anti peptide citrulliné (Anti-CCP) par test ELISA.

5-Recherche des anti-corps anti facteur nucléaire (FAN).

-Dosage EUROIMMUN en IFI.

-Technique AESKULISA ANA-Hep2.

Annexe II: Appareils et instruments.

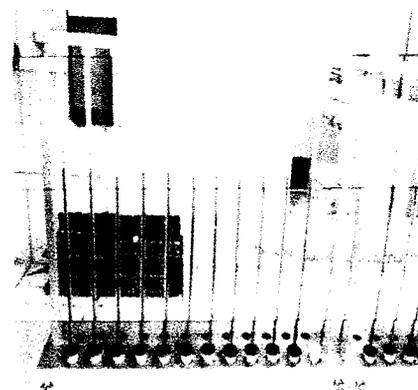
Annexe III: Fiche de renseignement.

Annexe VI: Exemple des résultats obtenus chez trois patients.

Annexe I : protocoles.

1-Vitesse de sédimentation :

- 1- Le prélèvement sanguin est récupéré dans un tube citrate (sang et anticoagulant).
- 2- A l'aide d'une poire, aspirer le sang à l'intérieur d'un tube vertical gradué appelé tube de Westergreen.
- 3- la vitesse à la quelle les globules rouges sédimentent est reportée en mm /h



4- Les résultats sont donnés en mm/h à la première heure et éventuellement, en mm/h à la deuxième heure

2-Recherche des facteurs rhumatoïdes :

Définition : Le facteur rhumatoïde (FR) est un auto-anticorps dirigé contre le fragment Fc des IgG. Il est retrouvé chez les malades atteints de polyarthrite rhumatoïde ainsi que dans d'autres maladies auto-immunes. Cet auto-anticorps peut appartenir à la classe des IgM, des IgG ou des IgA ; ces différents isotypes sont appelés FR IgM, IgG ou IgA. Cependant, dans la majorité des cas, on a affaire à une IgM anti-IgG. Celle-ci peut être essentiellement mise en évidence par deux techniques d'agglutination : le test au latex et la réaction de WAALER ROSE.

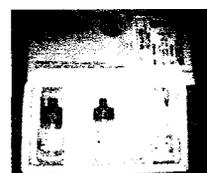
2-1- Test au latex :

Principe :

Il s'agit d'une réaction d'agglutination passive sur lame utilisant des particules de polystyrène sensibilisées par des gammaglobulines humaines et qui donnent lieu à une agglutination lorsque elles sont mélangées à un échantillon contenant des facteurs rhumatoïdes.

Matériels :

- Kit SPINREACT RF-LATEX contenant :
Latex : Suspension de particules de latex couverte de gammaglobulines humaines, pH =8,2 ; Conservateur



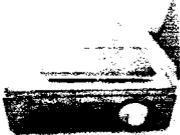
Contrôle positif : Couvercle rouge ; Sérum humain avec une concentration de FR > 30 UI/ml. Conservateur

Contrôle négatif : Couvercle bleu ; Sérum animal ; Conservateur

- Plaque test avec 6 champs type RAPITEX RF BEHRING. 

- Baguettes pour mélanger.

- Micropipette de 50 μ l. 

- Agitateur. 

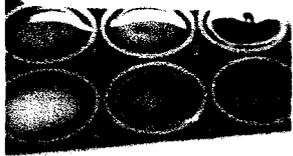
- Diluant. 

Echantillon : Sérum frais. Stable 7 jours à 2-8°C ou 3 mois à -20°C. Les échantillons à restes de fibrine doivent être centrifugés avant le test. 

Ne pas utiliser les échantillons hémolysés ou lipémiques.

Protocole :

Méthode qualitative

1. Tempérer les réactifs et les échantillons à température ambiante. La sensibilité du test réduit à températures basses. 
2. Déposer 50 μ L de l'échantillon à tester ainsi qu'une goutte de chaque substance de contrôle.

3. Mélanger le réactif de FR- latex vigoureusement ou avec l'agitateur vortex avant de l'utiliser. Déposer une goutte (50 µL) à côté de chacune des gouttes précédentes.
4. Mélanger les gouttes au moyen d'une baguette, en essayant d'étendre le mélange sur toute la superficie intérieure du cercle. Utilisez des baguettes différentes pour chaque échantillon
5. Placer la porte sur un agitateur rotatif de 80 – 100 t.p.m. pendant 2 minutes. L'excès de temps peut entraîner l'apparition de faux positifs.

Méthode semi-quantitative

1. Réaliser des dilutions doubles de l'échantillon dans une solution saline 9 g/L.



2. Pour chaque dilution, procédez comme pour la méthode qualitative.

Lecture et interprétation :

Examiner la présence ou l'absence de l'agglutination immédiatement après avoir retiré le couvercle de l'agitateur. La présence d'une agglutination indique une concentration en FR égale ou supérieure à 8 UI/ml.

Dans la méthode semi-quantitative, l'intitulé de la méthode est déterminé comme la méthode la plus positive.

Calculs :

La concentration moyenne de FR dans l'échantillon du patient est obtenue en mettant en pratique la formule suivante:

$$8 \times \text{Intitulé de FR} = \text{UI/ml.}$$

Contrôle de qualité :

Il est conseillé d'utiliser le contrôle positif et négatif pour réguler la fonctionnalité du réactif de latex, et comme modèle de comparaison pour interpréter les résultats.

Tout résultat autre que le résultat qui donne le contrôle négatif est considéré comme positif.

Valeurs de référence :

Jusqu'à 8 UI/ml. Il est conseillé à chaque laboratoire d'établir ses propres valeurs de référence

Limites de la méthode :

- L'incidence des résultats positifs erronés équivaut à 3-5%. Les individus qui semblent offrir d'autres maladies telles que la mononucléose infectieuse, l'hépatite, la syphilis et les personnes âgées peuvent montrer des résultats positifs erronés.

- Il est important, pour obtenir un diagnostic précis de la maladie, de réaliser également un test de Waaler Rose, en parallèle de l'examen clinique du patient.

2-2- Réaction de WAALER ROSE :

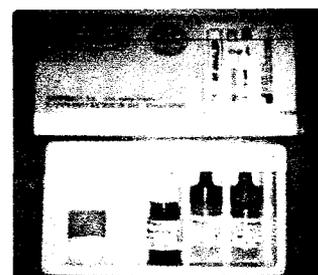
Principe :

La technique de Waaler Rose est une technique d'hémagglutination permettant de détecter la qualité et la semi quantité de FR dans le sérum humain. Les hématies stabilisés de chèvre et sensibilisés avec de l'IgG de lapin anti-hématies de chèvre, sont agglutinés par les FR présents dans l'échantillon du patient.

Matériels :

- Kit SPINREACT RF-WAALER contenant :

Waler Rose : Suspension des hématies stabilisés de chèvres et sensibilisés avec de la IgG de lapin anti-hématie de chèvre, pH = 8,2. Préservative.



Contrôle positif Couvercle rouge : Sérum humain avec une concentration de FR > 30 UI/ml. Préservative,

Contrôle négatif Couvercle bleu : Sérum animal, Préservative.

- Plaque de microtitration : en polystyrène, c'est une plaque blanche et non réutilisable.
- Micropipette réglable de 50µl.
- Baguettes pour mélanger.

Echantillon : Sérum frais. Stable 8 jours à 2-8°C ou 3 mois à -20°C. Les échantillons à reste de fibrines doivent être centrifugés avant d'être utilisés. Ne pas utiliser d'échantillons hémolysés ou lipémiques.

Protocole :**Méthode qualitative :**

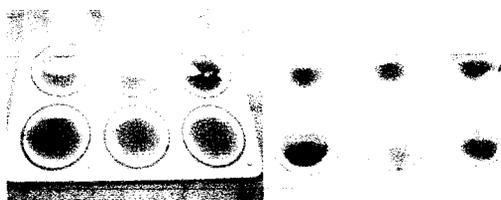
1. Tempérer les réactifs et les échantillons à température ambiante. La sensibilité du test réduit à températures basses.



2. Déposer 50 µL de l'échantillon à tester ainsi qu'une goutte de chaque substance de contrôle Positif et négatif sur cercles différentes d'une plaque.

3. Mélanger le réactif de WR vigoureusement ou avec l'agitateur vortex avant utilisation. Déposer une goutte (50 µL) à coté de chacune des gouttes précédentes.

4. Mélanger les gouttes au moyen d'une baguette, en essayant d'étendre le mélange sur toute la superficie intérieure du cercle. Utilisez des baguettes différentes pour chaque échantillon



5. Situer la plaque sur une superficie lisse et plane durant 2 minutes.

6. Tout de suite après, incliner la plaque à 45° à l'horizontale et laisser reposer pendant 1 minute. L'excès de temps peut entraîner l'apparition de résultats positifs erronés.

Méthode semi-quantitative :

1. Réaliser des dilutions doubles de l'échantillon dans une solution saline 9 g/L.

2. Pour chaque dilution, procédez comme pour la méthode qualitative.

Lecture et interprétation :

Examiner la présence ou l'absence d'agglutination immédiatement après avoir terminé la réaction, en évitant de déplacer ou de soulever la plaque pendant l'analyse. La présence d'une agglutination indique une concentration de FR égale ou supérieure à 8 UI/ml.

Dans la méthode semi-quantitative, l'intitulé de la méthode est déterminé come la méthode la plus positive.

Calculs :

La concentration moyenne en FR de l'échantillon du patient est obtenue par la formule suivante:

$$8 \times \text{Intitulé de FR} = \text{UI/ml.}$$

Contrôle de qualité :

Il est conseillé d'utiliser le contrôle positif et négatif pour réguler la fonctionnalité du réactif du réactif, et comme méthode de comparaison pour interpréter les résultats.

Tout résultat autre que le résultat qui donne le contrôle négatif est considéré comme positif.

Valeurs de référence :

Jusqu'à 8 UI/ml. Il est conseillé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence.

Limites de la méthode :

- L'incidence des résultats positifs erronés est de 3-5%. Les individus qui souffrent de maladies telles que la mononucléose infectieuse, l'hépatite, la syphilis, et les personnes d'un âge avancé peuvent montrer des résultats positifs erronés.
- Il est important pour établir un bon diagnostic de la maladie de réaliser également un test de FR-latex, en parallèle de l'examen clinique du patient.

3-Détermination de la protéine C réactive (CRP) :**Test au latex :****Principe :**

La technique CRP-Latex est une technique d'agglutination qui permet de détecter la qualité et la semi-quantité de CRP dans le sérum humain. Les particules de latex recouvertes d'anticorps anti-CRP humaine sont agglutinées par les molécules de CRP présentes dans l'échantillon prélevé sur le patient.

Matériels :

C'est le même matériel utilisé dans la méthode RF-LATEX , En ajoutant le Kit SPINREACT CRP-LATEX qui contient :

Latex : Suspension de particules de latex couvertes d'IgG de chèvre anti-PCR humaine, pH, 8,2. Conservateur.

Contrôle positif Couvercle rouge : Sérum humain avec une concentration de PCR > 20 mg/L. Conservateur

Contrôle négatif Couvercle bleu : Sérum animal. Conservateur



Echantillons : C'est les mêmes utilisés dans les méthodes RF-LATEX et RF- WAALER

Protocole :**Méthode qualitative :**

1. Tempérer les réactifs et les échantillons à température ambiante. La sensibilité du test est réduite à températures basses.
2. Déposer 50 μ L de l'échantillon (Remarque 1) à tester ainsi qu'une goutte de chaque substance de contrôle positif et négatif, sur cercles différentes d'une porte..
3. Mélanger le réactif CRP- latex vigoureusement ou avec l'agitateur vortex avant utilisation. Déposer une goutte (50 μ L) à côté de chaque goutte précédente..
4. Mélanger les gouttes au moyen d'une baguette, en essayant d'étendre le mélange sur toute la superficie intérieure du cercle. Utilisez des baguettes différentes pour chaque échantillon.
5. Situer la porte sur un agitateur rotatif à 80 – 100 t.p.m. et agiter durant 2 minutes. Trop de temps peut donner lieu à des résultats positifs erronés.

Méthode semi-quantitative :

1. Réaliser des dilutions doubles de l'échantillon dans une solution saline 9 g/L.
2. Pour chaque dilution, procédez comme pour la méthode qualitative.

Lecture et interprétation : Examiner la présence ou l'absence d'agglutination, immédiatement après avoir retiré la plaque de l'agitateur. La présence d'agglutination indique une concentration en CRP égale ou supérieure à 6 mg/L.

Dans la méthode semi quantitative, l'intitulé est défini comme la dilution principale qui donne un résultat positif.

Calculs :

La concentration moyenne de CRP dans l'échantillon du patient s'obtient en appliquant la formule suivante:

$$6 \times \text{intitulé de CRP} = \text{mg/L}$$

Contrôle de qualité :

Il est conseillé d'utiliser le contrôle positif et négatif pour réguler la fonctionnalité du réactif de latex, et comme méthode de comparaison pour interpréter les résultats. Tout résultat autre que le résultat qui donne le contrôle négatif est considéré comme positif.

Valeurs de référence :

Jusqu'à 6 mg/L. Il est conseillé à chaque laboratoire de déterminer ses propres valeurs de référence.

4- Recherche des auto-anticorps anti peptides citrulinés par test**ELISA.****Principe du test :**

Ce dosage ELISA permet la réalisation d'un dosage semi-quantitatif ou quantitatif in vitro pour la détermination d'auto anticorps humains de classe IgG dirigés contre les peptides cycliques citrulinés (CCP). Le coffret contient des barrettes de microtitration de 8 puits de réactif sécables, coatés avec des peptides cycliques citrulinés synthétiques. Lors de la première étape de la réaction, les échantillons patients dilués (sérum ou plasma sur EDTA, héparine ou citrate) sont incubés dans les puits. Dans le cas d'échantillons positifs, les anticorps spécifiques de classe IgG (mais aussi IgA et IgM) se fixeront sur les antigènes correspondants. Pour détecter les anticorps fixés, une seconde incubation est réalisée en utilisant un anticorps anti-IgG humain couplé à une enzyme (conjugué enzymatique). Ce conjugué est capable de générer une réaction colorée.

Composition du Kit :**1- Puits de la microplaque coatés**

avec les antigènes : 12 barrettes de 8 puits sécables sur leur support, coatés avec les antigènes. Prêt à l'emploi



2- Calibrateur 1 à 5 :1, 5, 20, 100, 200UR/ml (IgG, humain), prêt à l'emploi

3-Contrôle positif : (IgG, humain), prêt à l'emploi.

4-Contrôle négatif : (IgG, humain), prêt à l'emploi.

5-Conjugué enzymatique :anti-IgG humaine (lapin) couplé à la peroxydase, prêt à l'emploi.

6- Tampon échantillon : prêt à l'emploi

7- tampon de lavage : 10×concentré.

8- Solution de chromogène/substrat : TMB/H₂O₂, prête à l'emploi.

9- Solution d'arrêt : Acide sulfurique 0,5M prête à l'emploi.

Conservation et stabilité : le Kit doit être conservé entre +2°C et +8°C. Ne pas congeler.

Non ouvert, tous les composants du Kit sont stables jusqu'à la date d'expiration indiquée.

Préparation et stabilité des réactifs

Remarque : Tous les réactifs doivent être amenés à température ambiante (+18°C à +25°C) environ 30minutes avant l'utilisation. Sauf mention contraire, après la première ouverture, les réactifs sont stables jusqu'à la date d'expiration indiquée s'ils sont conservés entre +2°C et 8°C et protégés de toute contamination.

-Puits coatés : prêts à l'emploi. Ouvrir l'emballage protecteur refermable de la microplaque au dessus de la fermeture rapide (zip). Ne pas ouvrir tant que la microplaque n'a pas atteint la température ambiante afin d'éviter toute condensation sur les barrettes individuelles. Replacer immédiatement les puits non utilisés d'une microplaque entamée dans l'emballage protecteur et refermer soigneusement avec la fermeture intégrée (ne pas retirer le dessiccateur contenu dans l'emballage). Une fois que la protection de l'emballage a été ouverte pour la première fois, les puits coatés avec les antigènes peuvent être conservés dans un endroit sec et à une température comprise entre +2°C et +8°C, pendant 4 mois.

-Calibrateur et contrôles : Prêt à l'emploi. Les réactifs doivent être homogénéisés minutieusement avant l'utilisation.

-Conjugué enzymatique : Prêt à l'emploi. Le conjugué enzymatique doit être homogénéisés minutieusement avant l'utilisation.

-Tampon échantillon : prêt à l'emploi.

-Tampon de lavage : Le tampon de lavage est concentré 10×. Si une cristallisation apparaît dans le flacon de tampon concentré, le chauffer à 37°C et mélanger son contenu soigneusement avant de le diluer. La quantité requise doit être prélevée du flacon avec une pipette propre et diluée avec de l'eau dé-ionisée ou de l'eau distillée (1part de réactif plus 9parts d'eau distillée).

-Solution du chromogène/substrat: Prête à l'emploi. Fermer la bouteille immédiatement après usage, le contenu étant sensible à la lumière. La solution du chromogène/substrat doit être claire au moment de l'utilisation. Ne pas utiliser la solution si elle est colorée en bleu.

-Solution d'arrêt : Prête à l'emploi.

Préparation et stabilité des échantillons sérum ou plasma :

Echantillon : Sérum ou plasma (sur EDTA, héparine ou citrate) humains. Ne pas utiliser d'échantillons inactivés à la chaleur, car ceux-ci pourraient engendrer des résultats faux positifs.

Stabilité : Les échantillons patients à examiner peuvent généralement être conservés entre +2°C et +8°C jusqu'à 14 jours. Les échantillons dilués doivent être dosés dans la journée. Dilution de l'échantillon : les échantillons patients à examiner sont dilués à 1 :101 avec du tampon échantillon. Exemple : Ajouter 10ul de sérum à 1.0ml de tampon échantillon et mélanger soigneusement sur un vortex (le pipetage d'échantillon n'est pas suffisant pour bien mélanger).

Remarque : les calibrateurs et les contrôles sont pré dilués et prêts à l'emploi. Ne pas les diluer.

Incubation :

Pour la réalisation d'un dosage qualitatif/semi-quantitatif, incuber seulement le calibrateur2 avec les contrôles positif et négatif et les échantillons patients. Pour la réalisation d'un dosage quantitatif, incuber les calibrateurs 1 à 5 avec des contrôles positif et négatif et les échantillons patients.

Réalisation manuelle (partielle) du test

Incubation des échantillons (1ere étape) : Transférer 100ul des calibrateurs, des controles positif et négatif ou des échantillons patients dilués dans des puits individualisés de la microplaque selon le protocole de pipetage. Le pipetage ne doit pas prendre plus de 15 minutes. Incuber 60minutes à température ambiante (+ 18°C à +25°C).

Lavage :

- Manuel ; vider puis laver 3 fois de suite les puits avec 300ul de tampon de lavage par cycle de lavage.
- Automatique ; Laver les puits 3fois avec 450ul de tampon de lavage (réglage du programme : Exemple le laveur TECAN Columbus « Overflow Mode »).

Laisser le tampon de lavage dans chaque puits pendant 30 à 60secondes pour chaque cycle de lavage, puis vider les puits. Après le lavage (test manuels et automatisés), éliminer

minutieusement toute trace de liquide dans la microplaque en la tapotant sur un papier absorbant face vers le bas, afin de se débarrasser de tout résidu de tampon de lavage.

Remarque : Du liquide résiduel (>10ul) restant dans les puits après le lavage peut interférer avec le substrat et aboutir à des valeurs de DO faussement faibles.

Un lavage insuffisant (exemple : moins de 3cycles de lavage, très faible volumes de tampon de lavage ou très courts temps de réaction) peut aboutir à des valeurs de DO faussement fortes.

Les positions libres sur la barrette de microplaque doivent être complétées avec des puits blancs du même format que celui de la microplaque du paramètre à analyser.

Incubation du conjugué (2^{ème} étape) : pipeter 100ul du conjugué enzymatique (anti-IgG humaine couplé à la peroxydase) dans chacun des puits de la microplaque. Incuber 30minutes à température ambiante (+18°C à +25°C).

Lavage : Vider les puits. Laver comme décrit plus haut.

Incubation du substrat (3^{ème} étape) : pipeter 100ul de la solution du chromogène/substrat dans chacun des puits de la microplaque. Incuber 30minutes à température ambiante, en protégeant la plaque de la lumière directe du soleil.

Arrêt de la réaction : Pipeter 100ul de la solution d'arrêt dans chacun des puits de la microplaque dans le même ordre et avec la même cadence que l'étape d'incubation du chromogène/substrat.

Lecture : La mesure photométrique de l'intensité de coloration doit être faite à la longueur d'onde 450nm et avec une longueur d'onde de référence comprise entre 620nm et 650nm, dans les 30minutes qui suivent l'arrêt de la réaction. Avant de mesurer, agiter soigneusement la microplaque pour assurer une bonne homogénéisation de la distribution de la solution d'arrêt.

Protocole de pipetage :

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	C2	P ₆	P ₁₄	P ₂₂			C1	P ₂	P ₁₀	P ₁₈		
B	Pos	P ₇	P ₁₅	P ₂₃			C2	P ₃	P ₁₁	P ₁₉		
C	Nég	P ₈	P ₁₆	P ₂₄			C3	P ₄	P ₁₂	P ₂₀		
D	P ₁	P ₉	P ₁₇	P ₂₅			C4	P ₅	P ₁₃	P ₂₁		
E	P ₂	P ₁₀	P ₁₈				C5	P ₆	P ₁₄	P ₂₂		
F	P ₃	P ₁₁	P ₁₉				Pos.	P ₇	P ₁₅	P ₂₃		
G	P ₄	P ₁₂	P ₂₀				Neg.	P ₈	P ₁₆	P ₂₄		
H	P ₅	P ₁₃	P ₂₁				P1	P ₉	P ₁₇	P ₂₅		

Le protocole de pipetage pour les barrettes de 1 à 4 est donné à titre d'exemple pour un dosage qualitatif/semi-quantitatif de 25 échantillons patients (P1 à P25).

Le protocole de pipetage pour les barrettes de 7 à 10 est donné à titre d'exemple pour un dosage quantitatif de 25 échantillons patients (P1 à P25).

Les calibrateurs (C1 à C5), les contrôles positif (pos) et négatif (nég) , et les échantillons patients ont été incubés chacun dans un puits. La fiabilité du dosage ELISA peut être améliorée en dosant chaque échantillon en double. Les contrôles positif et négatif servent au contrôle interne de la fiabilité des procédures du dosage. Ils doivent être inclus dans chaque série de dosage.

Calculs des résultats :

Dosage qualitatif/Semi-quantitatif : les résultats peuvent être évalués semi-quantitativement par le calcul d'un ratio avec la DO du contrôle ou de l'échantillon patient et la DO du calibrateur 2. Calculer ce ratio selon la formule suivante :

DO du contrôle ou de l'échantillon patient = Ratio.

DO du calibrateur 2

EUROIMMUN recommande d'interpréter les résultats de la manière suivante :

Ratio ≤ 1,0	Négatif
Ratio > 1,0	Positif

Dosage quantitative : la courbe standard à partir de laquelle la concentration des anticorps anti-CCP dans les échantillons patients pourra être lue, est obtenue en lançant une courbe point à point reliant les valeurs de DO mesurées pour les 3 sérums de calibration (linéaire, axe y) contre les unités de concentrations correspondantes (logarithmique, axe x). La courbe standard peut être calculée par ordinateur en utilisant un des modes suivant : régression logistique à 4 paramètres, régression logistique à 5 paramètres, spline d'ajustement, courbe log-logit et courbe lim/limit.

5- Recherche des anti-corps anti facteur nucléaires (FAN) :

5-1-Dosage EUROIMMUN en immunofluorescence indirecte :

Principe du test : Le coffret est conçu exclusivement pour le dosage in vitro des anti-corps humains dans le sérum ou dans le plasma. Le dosage peut être réalisé de manière qualitative ou quantitative.

Les substrats sont incubés avec l'échantillon de patient préalablement dilué. Si l'échantillon est positif, les anticorps spécifiques de classes IgA, IgG et IgM se fixent aux antigènes

tissulaires. Dans une seconde étape, les anti-corps fixés sont révélés avec des anticorps anti-immunoglobulines humaines couplés à la fluorescéine et observés avec un microscope à fluorescence.

Contenus d'un coffret de 50 tests :

1. Lame :
2. Anticorps anti-humain couplé à la fluorescéine (chèvre). Prêt à l'emploi (CONJUGATE)
3. Contrôle positif, humain, prêt à l'emploi
4. Contrôle négatif, humain, prêt à l'emploi
5. Sel pour PBS pH 7,2
6. Tween 20
7. Milieu de montage, prêt à l'emploi (GLYCEROL)
8. Lamelles couvre-objet (62mm×23mm) (COVERGLASS)

Réalisation du test :

La technique TITERPLANE a été développée par EUROIMMUN pour standardiser les analyses immunologiques. Les échantillons ou les anticorps marqués sont d'abord déposés dans les puits de réaction du support de réactifs. Les lames à BIOCHIPS sont ensuite placées dans leurs positions correspondantes sur le support de réactif (avec l'ergot de repérage), afin de mettre en contact les BIOCHIPS de la lame et les puits contenant les échantillons. Ainsi, au moment de l'incubation, toutes les réactions individuelles commencent en même temps. La position et la taille des gouttes sont définies précisément par géométrie du système. Comme les fluides sont confinés dans un espace clos, l'utilisation d'une « chambre humide » conventionnelle n'est pas nécessaire. Cette technique permet donc d'incuber coté à coté et simultanément plusieurs échantillons dans les mêmes conditions.

Préparation :

1.1. Préparation et stabilité des réactifs : les réactifs individuels d'un lot sont associés les uns aux autres et ne doivent généralement pas être échangés avec ceux d'un autre lot. Après la première ouverture, les réactifs sont stables jusqu'à la date d'expiration du coffret s'ils sont conservés entre +2°C et +8°C et s'ils sont protégés de toute contamination.

- Lames : prêt à l'emploi. N'ouvrir les pochettes protectrices des lames que lorsqu'elles ont atteint la température ambiante. Identifier les lames avec un feutre. Ne pas toucher les BIOCHIPS. Après l'ouverture de la pochette protectrice, la lame ne doit pas être utilisée pour le diagnostic.

- Anticorps secondaire conjugué à la fluorescéine (FITC) : avant sa première utilisation, mélanger soigneusement. Le conjugué est sensible à la lumière.
 - Contrôles positif et négatif : mélanger soigneusement avant leur première utilisation.
 - TBS-Tween : 1sachet de « sel pour tampon phosphate » doit être dissout dans 1litre d'eau distillée (optimum : eau pour perfusion eau injectable) et mélanger avec 2ml de Tween 20 (agiter pendant 20min jusqu'à homogénéisation complète). Le tampon PBS-Tween ne doit pas être utilisé si la solution devient trouble ou si une contamination apparait.
 - Milieu d'inclusion : prêt à l'emploi.
 - Lamelles couvre-objet : prêt à l'emploi.
- Support de réactifs : les puits de réaction du support de réactifs sont hydrophiles et les pourtours hydrophobes. Si nécessaire nettoyer le support avec de l'Extran MA01(Merck), et rincer le support abondamment à l'eau. Pour le désinfecter : tremper le support 1 heure dans une solution de Sekusept Extra (Henkel) à 3%. Apres la désinfection rincer le support abondamment à l'eau et sécher le support avec du papier absorbant.
- Tampon d'avidités 1 et 2 : mélanger soigneusement avant l'utilisation.
 - Solution d'urée : prête à l'emploi, mélanger soigneusement avant l'utilisation.
 - EUROSORB : prêt à l'emploi. Diluer les échantillons au 1 :10 avec EUROSORB, Diluer ensuite avec le PBS-Tween pour atteindre la dilution finale et mélanger soigneusement, incuber le mélange pendant 15min a température ambiante. Alternativement centrifuger le mélange (5min. à 2000 rpm et à température ambiante).
 - Tampon Glycine-urée : prêt à l'emploi. Mélanger soigneusement avant l'utilisation. Le tampon doit être jaune clair et ne doit pas être utilisé si sa couleur devient verte ou bleue. La solution Glycine-urée est sensible à la chaleur. Conserver entre +2°C et +8°C. Le tampon peut également être fractionné et conservé à -20°C. toute précipitation durant la décongélation du tampon peut être éliminée par agitation énergique de la solution.
 - Tampon échantillon : prêt à l'emploi, mélanger soigneusement avant l'utilisation.
 - Tampon échantillon2 : prêt à l'emploi. Mélanger soigneusement avant l'utilisation.
 - Tampon échantillon3 : prêt à l'emploi, mélanger soigneusement avant l'utilisation.
 - Tampon CMV : 1 sachet de « Sel pou PBS » il doit être dissout dans un litre d'eau distillée et mélanger avec 1ml de « Additif pour le tampon CMV », agiter pendant 20min jusqu'à homogénéisation complète.
 - Absorbant FTA-ABS : lyophilisé. Dissoudre le lyophilisat en respectant le volume indiqué sur l'étiquette du réactif dans de l'eau bi-distillée et mélanger soigneusement. L'absorbant FTA préparé peut être aliquoté et conservé à -20°C. il est alors stable pour un maximum de 3 mois ou jusqu'à la date d'expiration indiquée, Si elle est inférieure à 3mois.

1.2. Préparation et stabilité des échantillons de sérum et de plasma :

-Echantillon : Sérum humains ou plasma EDTA, héparine ou citrate.

-Stabilité : les échantillons de patients à tester peuvent généralement être conservés jusqu'à 14 jours entre +2°C et +8°C. Les échantillons dilués doivent être testés le jour même.

-Anticorps de classe IgM : avant la détermination des anticorps spécifiques de classe IgM, les anticorps de classe IgG doivent être éliminés de l'échantillon patient par immunoabsorption. Ce traitement évite toute réaction des facteurs

rhumatoïdes de classe IgM présents dans l'échantillon de patient avec les IgG spécifiquement fixées et donner ainsi des faux résultats IgM positifs, ou déplacement des IgM par des IgG spécifiques de leur fixation à l'antigène

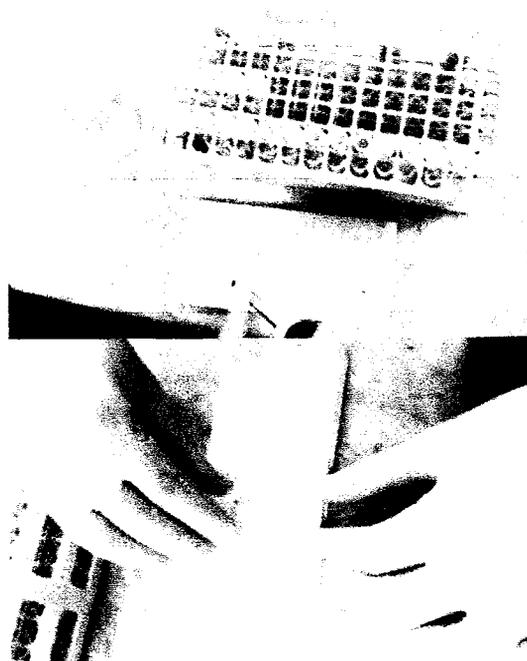
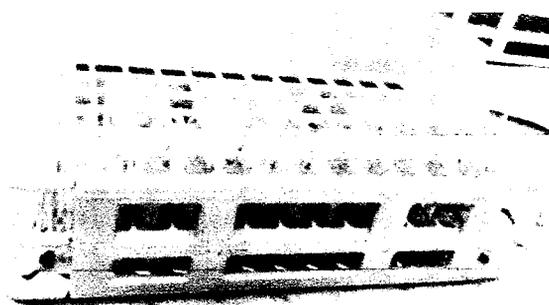
(faux résultats IgM négatifs). L'immunoabsorption des IgG élimine également en même temps les facteurs rhumatoïdes (absorbant des FR).

-Dilution des échantillons recommandée pour une évaluation qualitative : diluer les échantillons patients à doser avec du tampon PBS-Tween* (par exemple dilution 1 :100 mélanger 10,1ul d'échantillon avec 1000ul tampon PBS-Tween* et homogénéiser soigneusement

-Dilution des échantillons recommandée pour une évaluation quantitative : les échantillons de patients à doser sont dilués avec du tampon PBS-Tween*. Placer 100ul de PBS-Tween** dans des tubes et ajouter 11,1 ul de la dilution précédente à forte concentration. La dilution à incuber dépend de l'anticorps recherché et du substrat approprié utilisé.

2. pipetage : déposer un volume défini dans chaque puits de réaction du titerplane en évitant les bulles d'air. Distribuer tous les échantillons de la série avant de commencer l'incubation (jusqu'à 200 dépôts). Utiliser le Titerplane avec son support en polystyrène.

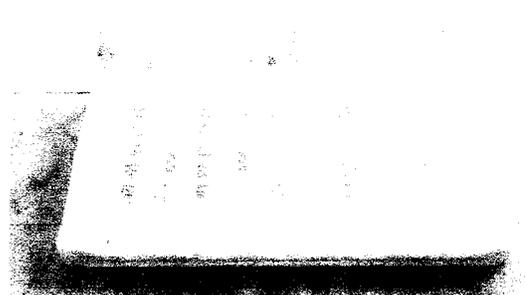
3. Incubation : Commencer les réactions en mettant chaque lame à BIOCHIPS dans la position correspondante sur le Titerplane (avec l'ergot de repérage). Vérifier que chaque échantillon est bien en contact avec son BIOCHIPS,



qu'il ne déborde pas et qu'il ne vienne pas en contact avec un autre échantillon. Incuber 30min à température ambiante.

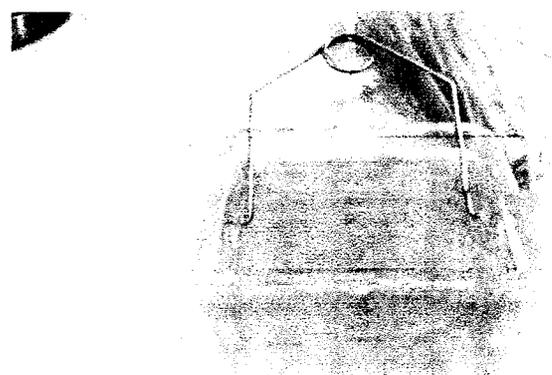
4. lavage : Rincer les lames à BIOCHIPS avec un flux de tampon PBS-Tween pendant au moins 5min. si possible agité sur un agitateur rotatif. Laver au maximum 16 lames par cuvette, ensuite remplacer le tampon PBS-Tween avec un tampon neuf.

5. Pipetage : Sur un Titerplane propre, déposer un volume défini d'anti-globuline humaine marquée à la fluorescéine dans chaque puits de réaction. Le conjugué doit être mélangé avant son utilisation. Faire tous les dépôts avant de continuer l'incubation. Utiliser une pipette à répétition. Pour gagner du temps, durant l'incubation des échantillons, le conjugué peut être déposé sur un autre support de réaction.



6. Incubation : sortir une lame du tampon PBS-Tween, et dans les 5secondes, essuyer le dos et les cotés de la lame, avec une serviette en papier. Placer la lame à BIOCHIPS immédiatement dans sa position sur le Titerplane (avec l'ergot de repérage). Ne jamais sécher les zones entre les puits de réaction. Vérifier que les BIOCHIPS sont bien en contact avec les solutions. Procéder de la même façon pour les autres lames. A partir de ce stade, protéger les lames de la lumière directe du soleil. Incuber 30min à température ambiante.

7. lavage : Remplir le bac de lavage avec du tampon PBS-Tween neuf. Rincer les lames à BIOCHIPS avec un flux de tampon PBS-Tween (utiliser un bécher) et les immerger immédiatement dans un bac de lavage contenant du tampon PBS-Tween neuf pendant au moins 5min. si possible agiter sur un agitateur rotatif. 10 gouttes de bleu Evans pour 150ml de tampon phosphate peuvent être ajoutées pour la contre coloration. Laver au maximum 16 lames par cuvette, ensuite remplacer le tampon PBS-Tween avec du tampon neuf.



8. Inclusion : placer des lamelles couvre-objet en verre sur le support d'inclusion en polystyrène. Déposer sur ces lamelles une goutte de max. 10ul de Glycérol/PBS par puits de

réaction. Sortir une lame à BIOCHIPS du tampon PBS-Tween. Essuyer avec une serviette en papier le dos, et les 4 bords de la lame, placer, face vers le bas, la lame avec les BIOCHIPS jusqu'à ce qu'elle soit en contact avec la lamelle couvre objet préalablement préparée.

Vérifier immédiatement que la lamelle couvre-objet est bien positionnée. Corriger la position si nécessaire. Procéder de même avec les autres lames.

9. Evaluation : Interpréter la fluorescence au microscope.

Recommandation générales : Objectif 20× (coupe de tissus, cellules infectées, et transfectées), 40× (Substrat cellulaire).

Filtre d'excitation : 488nm, séparateur de couleur : 510nm, filtre de blocage : 520nm.

Source lumineuse : lampe à vapeur de mercure, 100W, EUROIMMUN LED, EUROStar Bluelight.

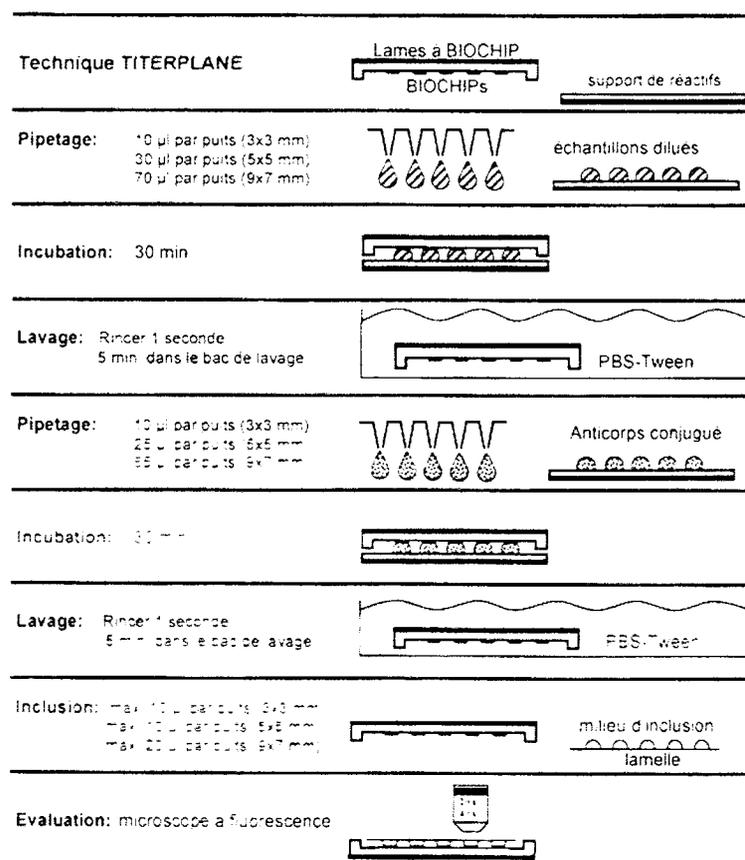
Aspect de fluorescence (réaction positive) : Si l'échantillon de patient contient des anticorps dirigés contre le substrat approprié, l'aspect de fluorescence doit correspondre à celui du contrôle positif. Si le contrôle positif ne montre aucun aspect de fluorescence spécifique ou si le contrôle négatif montre une fluorescence spécifique claire, les résultats ne doivent pas être utilisés et le dosage doit être refait.

Une large gamme d'image de fluorescence peut être trouvée sur le site internet d'EUROIMMUN (www.euroimmun.com)

Evaluation qualitative : si une fluorescence spécifique peut être observée à la dilution recommandée, le résultat est interprété comme « positif ». si aucune fluorescence spécifique n'est observée, le résultat est interprété comme négatif.

Evaluation quantitative : le titre est défini comme le facteur de dilution pour laquelle une fluorescence spécifique est tout juste identifiable. Ceci doit être comparé à la réaction obtenue avec un sérum négatif à la même dilution.

EUROIMMUN

Medizinische
Labor Diagnostika
AG

5-2-Technique AESKULISA ANA-HEp 2 :

Principe du test : les échantillons de sérum dilué au 1 :101^{ème} sont incubés dans les microplaques sensibilisées avec l'antigène spécifique. Les anticorps du patient présents dans l'échantillon se lient à l'antigène. La fraction non liée est alors éliminée par lavage. Des immunoglobulines anti-humaines marquées à la peroxydase de raifort (conjugué) sont ensuite incubées et réagissent avec le complexe antigène-anticorps fixé sur les microplaques. Le conjugué non lié est alors éliminé par lavage. L'addition de substrat TMB (tétra-méthylbenzidine) provoque une réaction enzymatique colorée (bleue), stoppée par de l'acide dilué (la couleur vire alors au jaune). L'intensité de la coloration du chromogène est proportionnelle à la quantité de conjugué lié au complexe antigène-anticorps, elle-même proportionnelle à la concentration initiale des anticorps respectifs dans l'échantillon de patient.

Matériels :

1- Kit AESKULISA ANA Hep 2 :

Contenu du kit :**A reconstituer :**

-Tampon Echantillons (5×) 1 flacon de 20ml –
concentré 5× (bouchon blanc, solution jaune) ;

Contenu : Tris, NaCl, BSA, azide de sodium
<0,1% (conservateur).

-Tampon de lavage (50×) 1 flacon de 20ml –
concentré 50× (bouchon blanc, solution verte) ;

Contenu : Tris, NaCl, Tween 20, azide de sodium
<0,1% (conservateur).

Prêt à l'emploi :

-Contrôle négatif : 2 flacons de 1,8ml (bouchon vert, solution incolore) ; Contenu : sérum
humain dilué, azide de sodium <0,1% (conservateur).

-Contrôle positif : 1 flacon de 1,5ml (bouchon rouge, solution jaune) ; Contenu : Sérum
humain dilué, azide de sodium <0,1% (conservateur).

-Cut-off Etalon : 1 flacon de 1,5ml (bouchon bleu, solution jaune) ; Contenu : Sérum
humain dilué, azide de sodium <0,1% (conservateur).

-Conjugué : 1 flacon de 15ml IgG (bouchon bleu, solution bleue) ; Contenu :
Immunoglobuline anti-humaine conjuguées à la peroxydase de raifort

-Substrat TMB : 1 flacon de 15ml (bouchon noir) ; Contenu : TMB/H₂O₂ stabilisé.

-Solution d'arrêt : 1 flacon de 15ml (bouchon blanc, solution incolore) ; Contenu : acide
chlorhydrique à 1mol/l.

-Microplaque : 12 barrettes de 8cupules sécables.

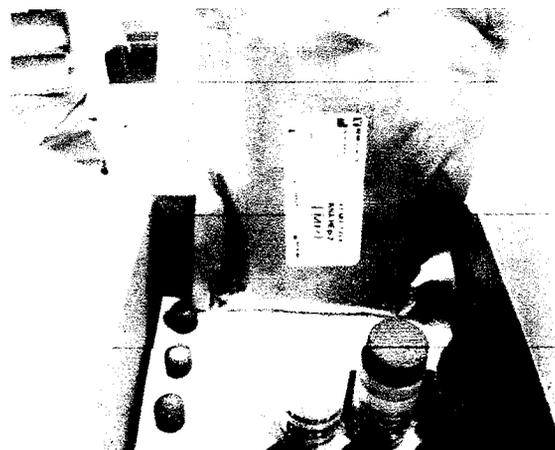
2- Lecteur de microplaque avec filtre de lecture à 450nm et filtre de référence (en option)
à 620nm (600 à 690 nm).

3- Verrerie, tubes à essai pour les dilutions.

4- Agitateur vortex.

5- Pipettes de précision (10, 100, 200, 500, 1000ul) ou multi pipette.

6- Appareil de lavage pour microplaques (pipette multicanaux ou système de distribution
automatique).



Procédure du test :

1- Préparations à effectuer avant la distribution :

Diluer les réactifs concentrés :

Diluer le tampon échantillons concentré au 1 :15^{ème} avec de l'eau distillée (par ex. 20ml+80ml).

Diluer le tampon de lavage concentré au 1 :50^{ème} avec de l'eau distillée (par ex. 20ml +980ml).

Echantillons :

Diluer les échantillons sériques au 1 :101^{ème} avec le tampon échantillons (1×).

Par ex. 1000ul de tampon échantillons (1×)+ 10ul de sérum. Bien homogénéiser !

Lavage :

Préparer 20ml de tampon de lavage dilué (1×) pour 8cupules ou 200ml pour 96cupules (par ex. 4ml de concentré + 196ml d'eau distillée).

Lavage automatique : prendre en compte les volumes supplémentaires requis pour l'amorçage et les volumes morts de l'appareil.

Lavage manuel : Eliminer le liquide des cupules en retournant la plaque . tapoter fermement la plaque sur un papier absorbant, en orientant les cupules vers le bas. Distribuer 300ul de tampon de lavage dilué dans chaque cupule et attendre 20secondes. Réaliser toute la procédure trois fois.

Microplaque :

Calculer le nombre de cupules requises pour effectuer le test. Retirer les cupules non utilisées du cadre de la plaque et les replacer dans le sac en plastique fourni, avec le dessiccatif ; fermer hermétiquement et conserver entre 2-8°C.

1- Mode opératoire :

-Pipeter 100ul de chaque sérum de patients dilué dans les puits désignés.

-Pipeter 100ul de cut-off étalon et contrôle négatif et positif dans les puits désignés.

-Incuber pendant 30minutes à température 20-30°C.

-laver 3fois avec 300ul de tampon de lavage (dilué au 1 :50^{ème}).

-Distribuer 100ul de conjugué dans chaque cupule.

-Incuber pendant 30minutes à température 20°C-32°C.

-laver trois fois avec 300ul de tampon de lavage (dilué au 1 :50^{ème})

-distribuer 100ul de substrat TMB dans chaque cupule.

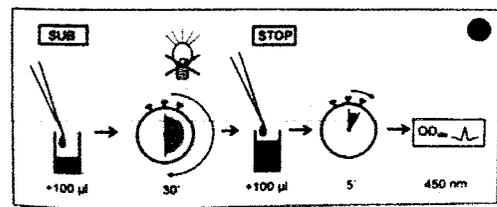
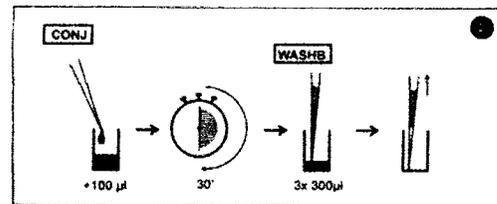
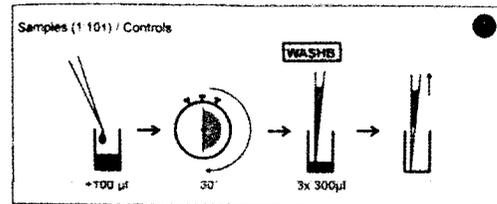
-incuber pendant 30minutes à température 20-32°C et à l'abri de la lumière

-Distribuer 100ul de solution d'arrêt dans chaque cupule, dans le même ordre que pour la distribution de substrat.

- Incuber pendant au moins 5minutes.
- Agiter la plaque avec précaution pendant 5secondes.
- Lire la densité optique à 450nm (en option 450/620nm) dans les 30minutes qui suivent.

Annex A: SCHEMATA OF THE TEST
 1. ADDITION OF SAMPLES AND CONTROLS
 2. INCUBATION
 3. WASHING
 4. ADDITION OF CONJUGATED ANTIBODIES
 5. WASHING
 6. ADDITION OF SUBSTRATE
 7. STOPPING
 8. READING

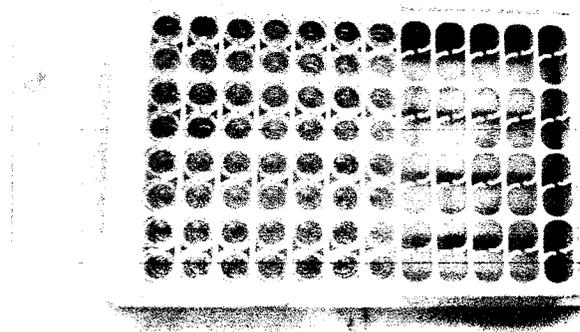
Annex B: Procédure du Test



Page 2 de 3

REF: 2007-08-28

REF: 2013-09-18-02



Interprétation semi quantitative :

Lire la densité optique du cut-off étalon et celle des échantillons de patients. Comparer la DO des patients à la DO du cut-off étalon. Pour l'interprétation qualitative, nous recommandons de considérer les sérums qui se situent dans un domaine de 20% autour de

la valeur du cut-off comme étant équivoques. Tous les échantillons, dont la DO est moins élevée que celle du cut-off, sont considérés négatifs.

Négatif : $DO_{\text{patient}} < 0,8 \times DO_{\text{cut-off}}$.

Equivoque : $0,8 \times DO_{\text{cut-off}} \leq DO_{\text{patient}} \leq 1,2 \times DO_{\text{cut-off}}$

Positif : $DO_{\text{patient}} > 1,2 \times DO_{\text{cut-off}}$.

Calibrateurs	D.O.450/620nm	CV%
Contrôle négatif	0,081	2,6
Cut-off étalon	0,350	1,8
Contrôle positif	1,259	0,7

Pour la semi-quantitative des résultats, chaque résultats, chaque valeur de DO des patients peut être exprimée à travers l'index. L'index se calcule en divisant la DO du patient par la DO du cut-off :

Négatif : $\text{index} < 0,8$.

Equivoque : $\text{Index} \leq 1,2$.

Positif : $\text{Index} > 1,2$.

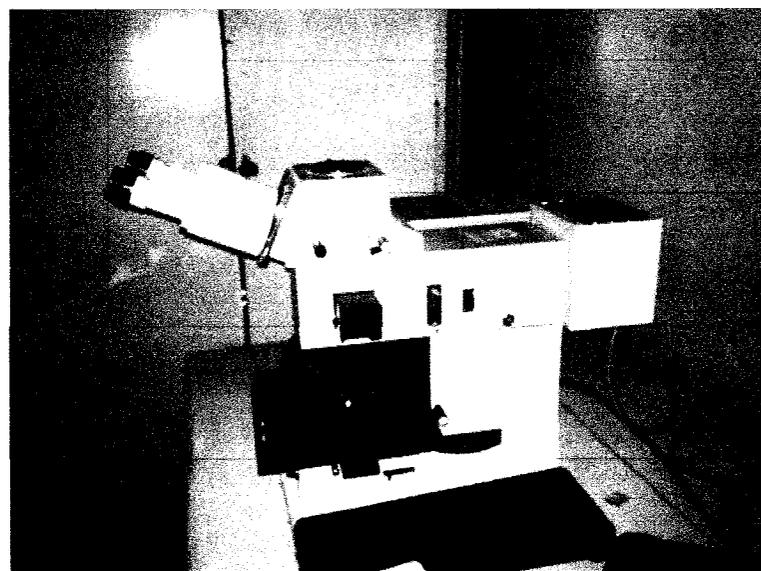
Annexe II : Appareils et instruments.

- Appareils :

1) Néphélomètre à laser :



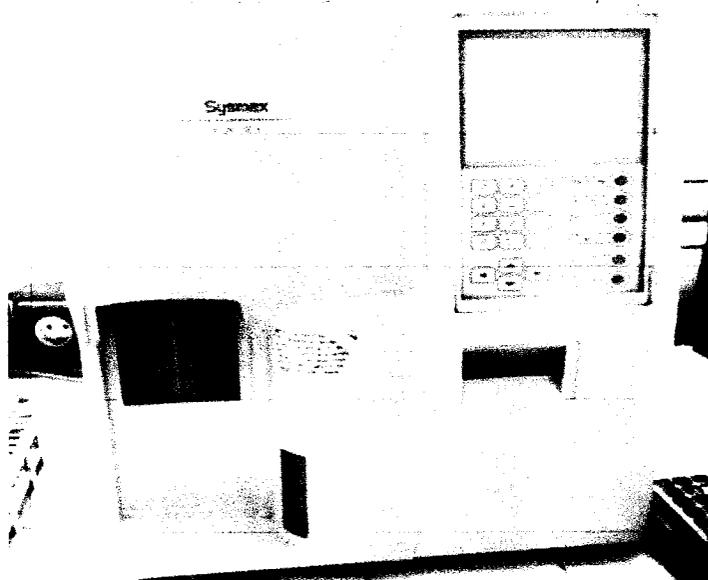
2) Microscope fluorescent.



3) Lecteur ELISA.

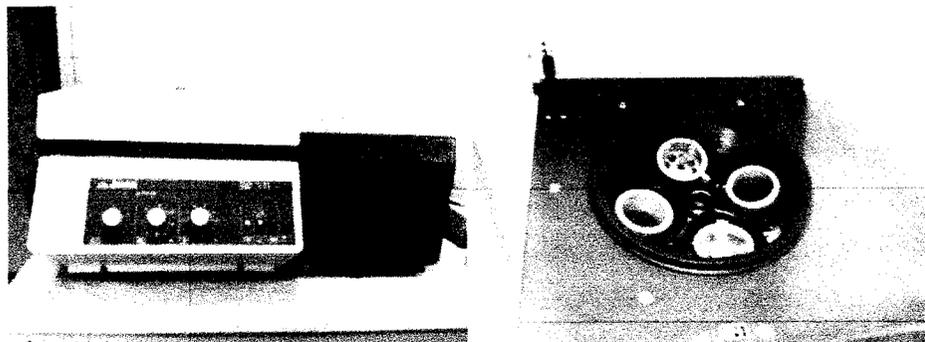


4) Compteur hématologique.

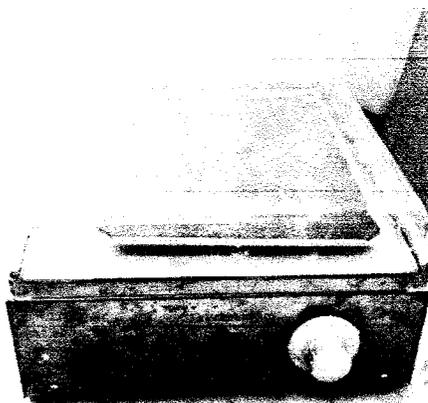


- Instruments annexes :

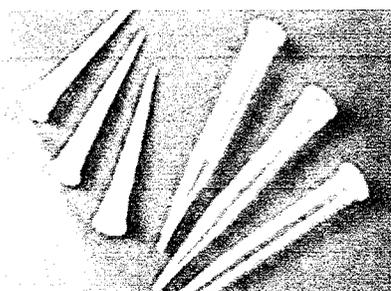
1) Centrifugeuse.



2) Agitateur.



3) Embouts.



4) Tube sec.



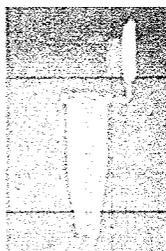
5) Tubes avec EDTA.



6) Tube avec citrate de sodium.



7) Eppendorf.



8) Micropipette 500ul, 50ul.



Annexe III : fiche de renseignement.**CENTRE HOSPITALO - UNIVERSITAIRE DE BLIDA****UNITE HASSIBA BEN-BOUALI****UNITE HOSPITALO - UNIVERSITAIRE D'IMMUNOLOGIE**

Tél : 025411895/96 poste : 220

Fiche de renseignement des malades atteints de polyarthrite rhumatoïde

N° d'identification : Date :

Nom : Prénom(s) :

Date de naissance : Sexe : Homme Femme

Adresse :

Numéro de téléphone :

Hospitalisé Externe

CHU : Service : Médecin traitant :

Antécédents personnels:Tabac : Oui Non HTA : Oui Non Hypercholestérolémie : Oui Non Diabète : Oui Non Autre affection auto-immune : Oui Non

Si oui préciser

Autres pathologies : Oui Non

Si oui préciser

Antécédents familiaux :

Rhumatisme inflammatoire chronique : Oui Non

Si oui préciser.....

Début de la symptomatologie :

Signes cliniques :

- Durée raideur matinale (mn) :
- Nombre d'articulations douloureuses sur 28 sites (NAD) :
- Nombre d'articulations gonflées sur 28 sites (NAG) :
- Evaluation globale de la maladie par le malade (mm) :
- Evaluation globale de la maladie par le médecin (mm) :

Siège de la synovite :

	Droite	Gauche
• Main	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
• Poignet	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
• Coude	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
• Epaule	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
• Hanche	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
• Genoux	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
• Cheville	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
• Pied	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Score critères ACR/ EULAR 2009 :

Score DAS28 :

Manifestations extra- articulaires : Oui Non

Si oui, préciser :

Pleuro-Pulmonaire

Cardio-vasculaire

Oculaire

Ténosynovite

Fièvre

Fatigue

Traitements :

AINS :	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>	Antalgiques :	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
Corticoïdes :	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>	Hydroxychloroquine :	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
Sulfasalazine :	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>	Leflunomide :	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
Méthotrexate :	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>	Rituximab :	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
Etanercept :	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>	Infliximab :	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>
Adalimumab :	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>	Acide folique :	Oui <input type="checkbox"/>	Non <input type="checkbox"/>

Examens demandés :**- Bilan inflammatoire :**

- VS
- CRP
- EPP/PPS
- FNS

- Bilan d'auto-immunité :

- FR
- ACCP
- FAN
- Autres

Tubes prélevés :

- Tube citraté
- Tube EDTA
- Tube sec

Médecin traitant :

Annexe IV : Exemple des résultats obtenus chez trois patients.

N°	Age	Sexe	Service	VS1 mm	VS2 Mm	Hb	CRP latex mg/l	CRP laser mg/l	FR latex UI/ml	FR W.R UI/ml	FR laser UI/ml	ACCP UI/ml	AAN	Nb d'art doul	Nb d'art gonf	DAS 28	Tabac
1	39ans	F	Hosp	10	29	12	6	3,17	8	8	10,5	2	Neg	10	10	4,77	Non
24	42ans	H	Hosp	6	20	13,8	6	7,29	1024	2048	222	489	Neg	8	2	3,64	Non
35	23ans	F	Hosp	16	40	10,4	6	1,35	8	8	26,3	76	Neg	28	20	6,8	Non

Résumé :

Introduction :

La polyarthrite rhumatoïde (PR) est le plus fréquent des rhumatismes inflammatoires chroniques. Il s'agit d'une composante inflammatoire et auto-immune de l'ensemble du tissu conjonctif à prédominance synoviale dont la pathogénie est mal élucidée.

L'objectif de notre travail est de comparer les résultats de notre échantillon de patients atteints de PR avec des témoins sains ainsi que d'établir un profil sérologique et inflammatoire de ces patients.

Matériels et méthodes :

Nous avons effectué une étude cas-témoins en comparant un échantillon de 130 patients atteints d'une PR confirmée, recrutées durant une période de 5 mois, avec une population de témoins sains. Les deux groupes ont bénéficié d'un bilan inflammatoire et d'un bilan d'auto-immunité.

Résultats :

On a noté une différence significative concernant les FR entre patients et témoins (FR_{moy} : 152,23± 25,22 vs 16,63± 0,2118 UI/ml, P<0,0001 respectivement), et les Anti-CCP (Anti-CCP_{moy} : 171,9± 26,89 vs 1,212± 0,05905 UI/ml, P<0,0001 respectivement) .

Conclusion :

Les données scientifiques actuelles permettent d'insister sur la nécessité d'une prise en charge très précoce, en dépit des difficultés de diagnostic et sur la nécessité d'un traitement efficace adapté individuellement à chaque risque évolutif, en se basant sur des paramètres pertinents de surveillance.

Mots clés :

Polyarthrite rhumatoïde, inflammation, Auto-immunité, facteurs rhumatoïdes, anti-corps anti-protéines cycliques citrulinées.

Abstract :

Introduction:

Rheumatoid arthritis (RA) is the most common chronic inflammatory rheumatism. It is an inflammatory and autoimmune connective tissue throughout the predominantly synovial whose pathogenesis is poorly understood.

The objective of our work is to compare the results of our sample of RA patients with healthy controls and to establish a serological profile of these patients and inflammatory .

Materials and methods:

We conducted a case-control study comparing a sample of 130 patients with a confirmed PR, recruited for a period of 5 months, with a population of healthy controls. Both groups received an inflammatory balance and a balance of autoimmunity.

Results:

There was a significant difference in FR between patients and controls (FR Avg: 152.23 ± 25.22 vs 16.63 ± 0.2118 IU / ml, $P < 0.0001$, respectively), and Anti-CCP (anti-CCPmoy: 171.9 ± 26.89 vs 1.212 ± 0.05905 IU / ml, $P < 0.0001$ respectively).

Conclusion:

Current scientific data help to emphasize the need for very early management, despite the difficulties in diagnosis and the need for effective treatment evolutionary adapted individually to each risk, based on monitoring of the relevant parameters.

Keywords :

Rheumatoid arthritis, inflammation, autoimmunity, rheumatoid factor, antibodies against cyclic citrullinated protein.