

Faut-il utiliser les nouveaux tests de dosage des anticorps anti-CCP

par technologie multiplex dans le diagnostic de la polyarthrite rhumatoïde ?



Pr S.S. SALAH^{1*}, Dr M. BENIDIR^{1*}, Dr R. SEDDI¹,
Pr H. HANNI¹, Pr M. DJENNANE², Dr F. MECHID³,
Pr D. ACHELI⁴, Dr A. HAMDI¹, Dr H. BALAOUANE¹,
Dr G. HAMADI¹, Dr A. MOUSSA-MBAREK¹,
Dr A. BENSALAM⁵, Pr C. MAKHLOUFI-DAHOU³,
Pr H. DJOUDI⁴, Pr N. ATTAL¹.

* Co-auteurs premiers.

1. Département d'Immunologie, Institut Pasteur d'Algérie, Alger.

2. Service de Rhumatologie, CHU Tizi Ouzou, Tizi Ouzou.

3. Service de Rhumatologie, CHU Bab El Oued, Alger.

4. Service de Rhumatologie, CHU Douéra, Alger.

5. Laboratoire des hépatites virales, Institut Pasteur d'Algérie, Alger.

Résumé

Introduction : Le facteur rhumatoïde (FR) était, pendant longtemps, le seul auto-anticorps recherché dans le diagnostic de la Polyarthrite Rhumatoïde (PR). Cependant, son manque de spécificité a contraint les experts de l'ACR/EULAR à réviser leurs critères de classification, incluant ainsi le dosage des anticorps anti-peptides ou protéines citrullinés (ACPA) en 2010, comme critère diagnostique et ceci du fait de leur grande spécificité. Leur recherche représente, à ce jour, le marqueur diagnostique le plus spécifique et le plus précoce de la PR. Malgré une spécificité atteignant les 98%, les anticorps anti-peptides cycliques citrullinés (anti-CCP) possèdent une sensibilité encore non satisfaisante, estimée à 68%. Dans le souci d'augmenter cette dernière, une méthode de dosage des ACPA a été mise au point : le dosage par la technologie d'immunofluorimétrie en flux (IFF), permettant de rechercher des ACPA dirigés contre des peptides humains (HCP1 et 2) et des peptides viraux (VCP1 et 2).

Objectif : Évaluer les critères diagnostiques du dosage des anticorps anti-CCP par la technologie multiplex en la comparant avec la technique de référence (ELISA).

Méthodes : Le dosage sérique des ACPA a été réalisé chez 273 patients PR, 64 sujets sains et 101 patients contrôles, par la technologie multiplex (FIDIS[®] anti-CCP, Theradiag), technique d'immunofluorimétrie, et comparé au dosage par ELISA (QUANTA Lite[®] anti-CCP3 IgG, Inova Diagnostics).

Résultats : La comparaison des valeurs diagnostiques des 2 tests de dosage des ACPA révèle une meilleure sensibilité de la technique ELISA (82,4% vs. 80,2%) contre une meilleure spécificité du dosage des ACPA par IFF (95,8% vs. 95,5%). Par ailleurs, La concordance globale entre les deux tests a été évaluée à 91%. De plus, l'analyse des résultats obtenus montre une corrélation positive entre la production des IgG anti-CCP3 et celle des IgG anti-HCP1 (Spearman $r = 0,360$), anti-HCP2 ($r = 0,504$), anti-VCP1 ($r = 0,516$) et anti-VCP2 ($r = 0,565$).

Conclusion : Au terme de notre étude, il en ressort que l'IFF possède des performances diagnostiques comparables à celles de la technique ELISA en matière de

dosage des ACPA, avec une excellente concordance. De plus, une corrélation positive existe entre la production des différents ACPA. Enfin, malgré la grande sensibilité des techniques de mesure des ACPA, il demeure des

patients PR séronégatifs, chez qui, il serait préférable de rechercher les anticorps anti-protéines carbamylées.

>>> **Mots-clés :** PR, ACPA, anti-HCP1, anti-HCP2, anti-VCP1, anti-VCP2, IFF, Multiplex, ELISA.

Abstract

Introduction : Rheumatoid factor (RF) was, for a long time, the only autoantibody sought in the diagnosis of Rheumatoid Arthritis (RA). However, its lack of specificity compelled the ACR/EULAR experts to revise their classification criteria, including the determination of anti-citrullinated peptides or proteins (ACPA) in 2010, as a diagnostic criterion, because of their specificity. Their research is the most specific and early diagnostic marker of RA. Despite a specificity up to 98%, anti-cyclic citrullinated (anti-CCP) antibodies have an unsatisfactory sensitivity estimated at 68%. In order to increase this sensitivity, a method for ACPA determination has been developed: Multiplexing assay (immunofluorimetry), making it possible to look for ACPA directed against human peptides (HCP1 and 2) and viral peptides (VCP1 and 2).

Objective : To evaluate the diagnostic criteria of anti-CCP antibody measurement assay with multiplexing technology by comparing it with reference technique (ELISA).

Material and Methods : ACPA measurement was performed in 273 sera of RA patients, 64 healthy subjects and 101 control patients (FIDISTM anti-CCP, Theradiag), immunofluorimetry assay and ELISA (QUANTA Lite® antibody -CCP3 IgG, Inova Diagnostics).

Results : Comparison of the diagnostic values of the 2 assays revealed a better sensitivity of ELISA (82.4% vs. 80.2%) against better specificity of Multiplexing assay (95.8% vs. 95.5%). In addition, the overall agreement between the 2 tests was evaluated at 91%. Furthermore, the analysis of obtained results shows a positive correlation between IgG anti-CCP3 production and IgG anti-HCP1 (Spearman $r = 0.360$), anti-HCP2 ($r = 0.504$), anti-VCP1 0.516) and anti-VCP2 production ($r = 0.565$).

Conclusion : At the end of our study, it emerges that Multiplexing assay has diagnostic performances comparable to those of ELISA technique for ACPA determination with an excellent agreement. Moreover, there is a positive correlation between different ACPAs production. Finally, despite the high sensitivity of ACPA measurement techniques, there are still seronegative PR patients in whom it would be preferable to look for antibodies directed against carbamylated proteins.

>>> **Key words :** RA; ACPA; anti-HCP1; anti-HCP2; anti-VCP1; anti-VCP2; Immunofluorimetry assay; Multiplexing assay; ELISA

Introduction :

Le facteur rhumatoïde (FR) était, pendant longtemps, le seul auto-anticorps recherché dans le diagnostic de la Polyarthrite Rhumatoïde (PR). Cependant, son manque de spécificité a contraint les experts de l'ACR/EULAR [1] à réviser leurs critères de classification, incluant ainsi le dosage des anticorps anti-peptides ou protéines citrullinés (ACPA) en 2010, comme critère diagnostique et ceci du fait de leur grande spécificité. Leur recherche représente, à ce jour, le marqueur diagnostique le plus spécifique et le plus précoce de la PR. Malgré une spécificité atteignant les 98%, les anticorps anti-peptides cycliques citrullinés (anti-CCP) possèdent une sensibilité encore non satisfaisante, estimée à 68% [2].

Dans le souci d'augmenter cette dernière, une méthode de dosage des ACPA a été mise au point : le dosage par

la technologie multiplex ou immunofluorimétrie en flux (IFF), permettant de rechercher des IgG dirigés contre des peptides humains (HCP1 et 2) et des peptides viraux (VCP1 et 2).

L'objectif de notre étude est d'évaluer les performances diagnostiques du test de dosage des ACPA par IFF en comparaison avec la technique ELISA de référence dosant les IgG anti-CCP de 3^{ème} génération (anti-CCP3).

Matériel et Méthodes :

1- Patients :

La présente étude a été réalisée au sein du laboratoire d'auto-immunité du département d'Immunologie de l'institut Pasteur d'Algérie et porte 438 cas subdivisés en 3 groupes (Tableau 1).

	Groupe I Patients PR	Groupe II Patients contrôles	Groupe III Sujets sains
Nombre	273	101	64
Âge [an]	51 ± 14	48 ± 16	31 ± 10
Âges extrêmes [an]	20 – 88	17 – 67	18 – 56
Sexe Ratio (H : F)	1 : 5	1 : 4	1 : 1
Durée d'évolution [an]	8,75 ± 9,5	3,6 ± 6,1	-

Tableau 1 : Caractéristiques démographiques de la population étudiée.

La population contrôle (Tableau 2), comprend des patients atteints de : rhumatisme Inflammatoire débutant indifférencié (RIDI), lupus érythémateux systémique (LES), sclérodermie systémique, syndrome de Sharp, syndrome de Sjögren, vascularites, hépatite virale C (HCV), hépatite auto-immune (HAI) et de diabète de type 1 (DT1).

Groupe II : Patients contrôles	Nombre	Âge [an]	Sexe Ratio (H : F)
RIDI	20	46 ± 15	1 : 3
LES	18	44 ± 17	1 : 10
Sclérodermie systémique	13	48 ± 11	1 : 10
Syndrome de Sharp	10	54 ± 11	1 : 10
Syndrome de Sjögren	5	50 ± 8	1 : 10
Vascularites	4	30 ± 8	1 : 3
HCV	15	40 ± 16	1 : 1
HAI	8	47 ± 18	1 : 7
DT1	8	28 ± 8	1 : 2

Tableau 2 : Caractéristiques démographiques de la population contrôle.

2- Méthodes :

2.1- Dosage des ACPA par la technique ELISA :

Il est réalisé par technique immuno-enzymatique quantitative, permettant le dosage des IgG humaines anti-CCP (Test QUANTA Lite® CCP3 IgG, Inova Diagnostics). L'antigène utilisé est un peptide citrulliné synthétique, fixé au fond des puits d'une plaque ELISA. Les IgG

anti-CCP, présents dans le sérum des patients, se lient au peptide fixé. Ensuite, un conjugué enzymatique anti-IgG humaine est rajouté dans chaque puit et se lie aux IgG anti-CCP déjà fixées et l'activité enzymatique résiduelle est quantifiée grâce à l'addition du substrat chromogène de l'enzyme utilisée comme marqueur et, enfin, après arrêt de la réaction enzymatique, la densité optique de la coloration développée est mesurée par spectrophotométrie à une certaine longueur d'onde (λ).

2.2- Dosage des ACPA par la technologie multiplex (IFF) :

Cette méthode permet l'identification semi-quantitative des anti-CCP sur supports particuliers utilisant un système de détection par cytométrie de flux. Elle permet la recherche simultanée de 4 anticorps, d'isotype IgG, dirigés contre 4 peptides citrulinés : HCP1, HCP2, VCP1 et VCP2 (Test FIDIS™ anti-CCP, Theradiag) :

- Histones citrulinées : la déimination des histones résulte de l'activité de la PAD4 (Peptidyl Arginine Déiminase 4). Les cibles antigéniques utilisées pour le dosage in vitro des ACPA correspondent à des antigènes endogènes : histone citrullinated peptide HCP1 et 2 qui dérivent de l'histone H4 [3].

- Protéines virales citrulinées : ces cibles antigéniques sont représentées par des protéines nucléaires virales codées par l'EBV [4]. L'EBNA-1 (Epstein-Barr nuclear antigen-1) contient dans sa région N-terminale une séquence (35-38) caractérisée par une répétition de Glycine-Arginine. Cette séquence a été synthétisée et nommée VCP1 [4]. Le peptide VCP2 correspond à la modification de la séquence 338-358 de la protéine EBNA-2[5]. Elle repose sur l'utilisation de microsphères (billes) de polystyrène de 5,6 μ m de diamètre, qui sont colorées par l'incorporation de deux marqueurs fluorescents rouge et orange en quantités variables, générant ainsi 100 types de billes différentes, chacune caractérisée par un code couleur. Sur chaque type de bille, un antigène différent (peptides synthétiques : HCP1, HCP2, VCP1 et VCP2) est fixé de façon covalente. Le sérum des patients est mis en présence d'un mélange de billes, en vue de la détection éventuelle des ACPA. Ensuite, un conjugué fluorescent anti-IgG humaines marqué à la phycoérythrine, permet de révéler et de quantifier les ACPA. À l'étape finale, chaque bille passe dans le faisceau de deux lasers d'un cytomètre, appelé également fluorimètre en flux.

- Le laser rouge (635 nm) identifie le code couleur de la bille, donc, l'auto-antigène par sa fluorescence intrinsèque.

- Le laser vert (532 nm) mesure la quantité de conjugué, donc, d'anti-CCP fixée à sa surface.

2. 3- Tests statistiques :

Afin de déterminer les performances diagnostiques des 2 tests « IFF et ELISA », la sensibilité et la spécificité ont été calculées de même que le recours à la courbe ROC (*Receiver Operating Characteristic*), qui permet de comparer les performances diagnostiques des 2 tests, grâce à l'évaluation des aires sous la courbe (*AUC, Area Under Curve*). Les taux de production des ACPA sont exprimés par la moyenne \pm 1 DS (déviation standard) et ont été comparés grâce au test de Student et la valeur du p (*p-value*) a été calculée, la différence étant statistiquement significative quand la p -value \leq 0,05. Quant à l'étude de la corrélation entre la production des différents ACPA, elle a été effectuée grâce au calcul du coefficient de corrélation de Spearman (r), une corrélation étant positive quand le r de Spearman a une valeur allant de 0 à 1 (faible entre 0-0,5 et forte entre 0,5-1). Les tests statistiques ont été réalisés grâce au logiciel : GraphPad Prism® version 5.01.

Résultats :

1- Résultats du dosage des ACPA par les deux tests IFF et ELISA :

Le dosage, par ELISA, des IgG anti-CCP3 a été effec-

tué dans les 3 groupes étudiés. Les résultats montrent clairement que ces auto-anticorps sont fortement produits par les patients PR (Figure 1).

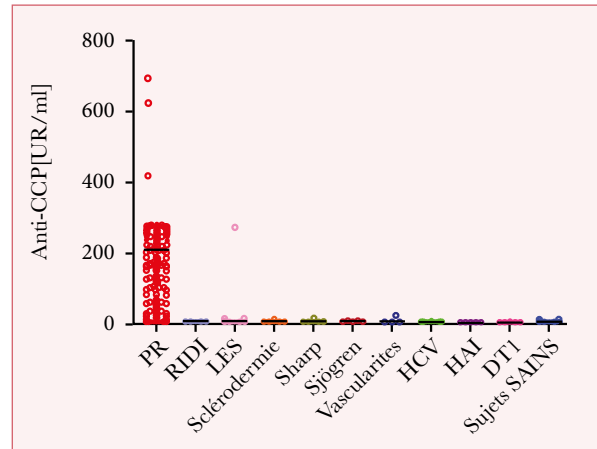


Figure 1 : Représentation en nuage points de la production des IgG anti-CCP3 mesurés par ELISA chez les patients PR et les contrôles.

Quant aux résultats du dosage des ACPA par IFF, ils montrent, de la même manière, que les ACPA sont fortement produits par les patients PR (Figure 2).

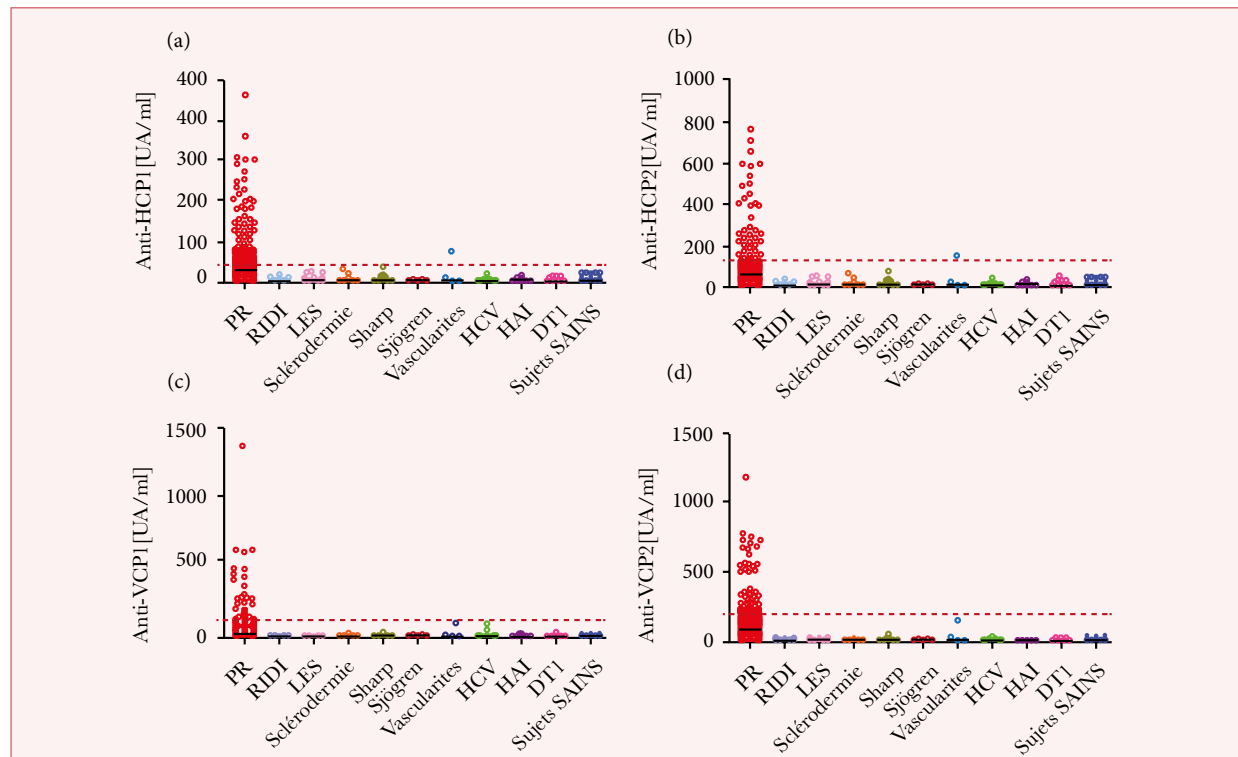


Figure 2 : Représentation en nuage points de la production des ACPA mesurés par IFF chez les patients PR et les contrôles : (a). Production des IgG anti-HCP1 ; (b). Production des IgG anti-HCP2 ; (c). Production des IgG anti-VCP1 ; (d). Production des IgG anti-VCP2.

2- Comparaison des taux des ACPA mesurés par IFF entre les patients PR et les sujets contrôles :

Grâce au test de Student, les taux moyens de production des IgG anti-HCP1, HCP2, VCP1 et VCP2 ont été comparés entre les patients PR et les sujets contrôles (patients contrôles et sujets sains).

	Patients PR	Contrôles*	P
Taux moyen en IgG anti-HCP1 [UA/ml]	45 ± 62	9 ± 9	< 0,0001
Taux moyen en IgG anti-HCP2 [UA/ml]	99 ± 145	10 ± 11	< 0,0001
Taux moyen en IgG anti-VCP1 [UA/ml]	57 ± 118	9 ± 12	< 0,0001
Taux moyen en IgG anti-VCP2 [UA/ml]	152 ± 194	14 ± 16	< 0,0001

*Contrôles = Patients contrôles + Sujets Sains

Tableau 2 : Comparaison des taux des ACPA mesurés par IFF entre les patients PR et les contrôles.

Il en ressort que les patients PR produisent, de manière statistiquement significative, plus d'ACPA que les sujets contrôles, en particulier, quand il s'agit des IgG anti-HCP2 et anti-VCP2 (Tableau 2 ; Figure 3).

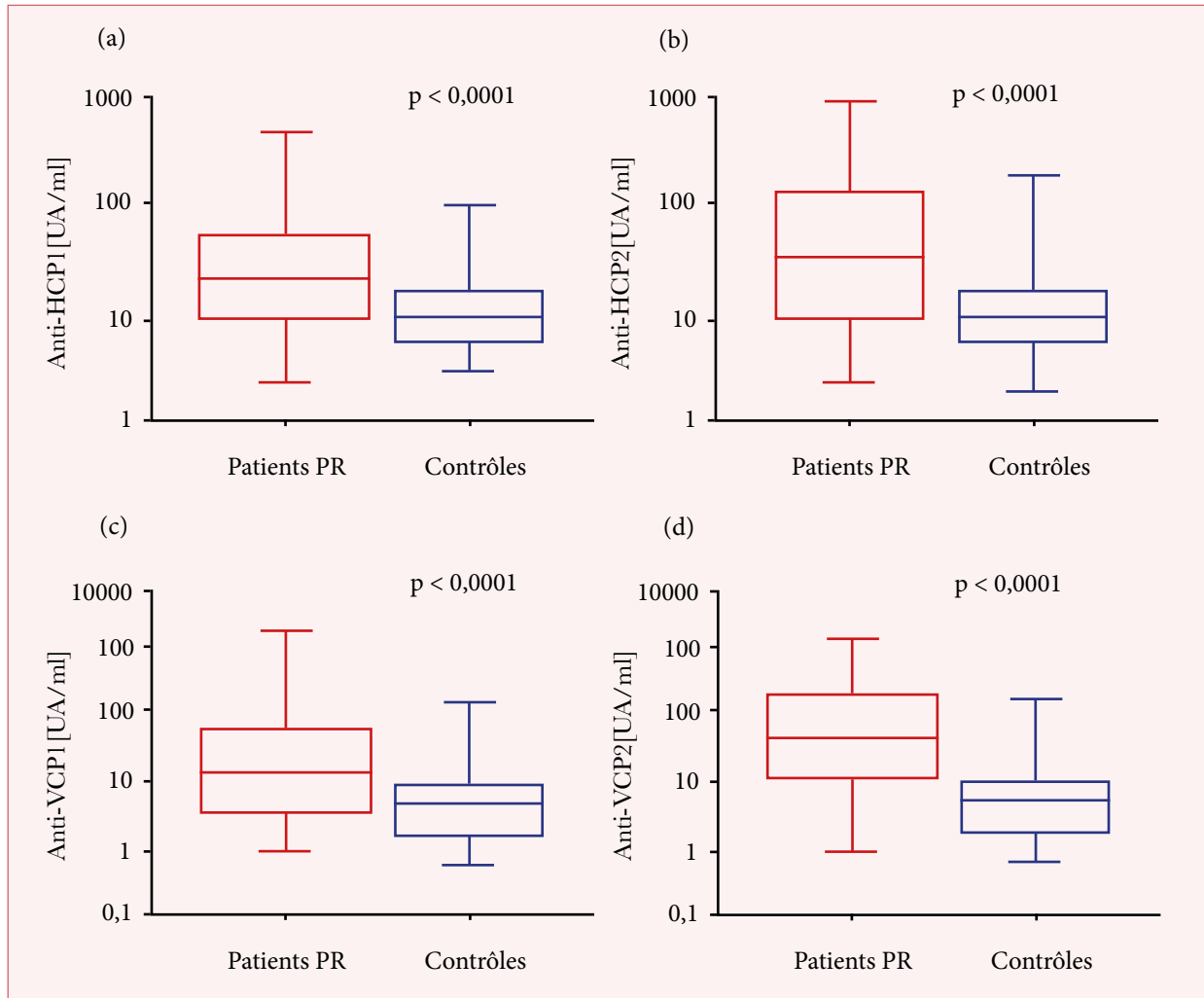


Figure 3 : Représentation en box-plot de la production des ACPA mesurés par IFF chez les patients PR et les contrôles : (a). Production des IgG anti-HCP1 ; (b). Production des IgG anti-HCP2 ; (c). Production des IgG anti-VCP1 ; (d). Production des IgG anti-VCP2.

3- Évaluation des performances diagnostiques des deux tests IFF et ELISA :

La comparaison des valeurs diagnostiques des 2 tests de dosage des ACPA FIDISTM anti-CCP (IFF) vs. QUANTA Lite® anti-CCP3 (ELISA), révèle une meilleure sensibilité de la technique ELISA (82,4% vs. 80,2%) contre une meilleure spécificité du dosage des ACPA par IFF

(95,8% vs. 95,5%). En outre, le calcul de la sensibilité et de la spécificité du dosage de chacun des auto-anticorps dirigés contre les peptides HCP1, HCP2, VCP1 et VCP2 montre une meilleure sensibilité du dosage des IgG anti-VCP2 (71,1%) et une excellente spécificité des IgG anti-HCP1 et anti-HCP2 de 98,8% (Tableau 3). Ceci permet de différencier la PR des autres maladies auto-immunes et des maladies infectieuses associées à des arthrites.

	Sensibilité (%)	Spécificité (%)
ELISA QUANTA Lite® anti-CCP3	82,4	95,5
IFF FIDISTM anti-CCP (4 peptides)	80,2	95,8
IFF FIDISTM anti-HCP1	43,2	98,8
IFF FIDISTM anti-HCP2	55,3	98,8
IFF FIDISTM anti-VCP1	35,5	97,6
IFF FIDISTM anti-VCP2	71,1	98

Tableau 3 : Comparaison des valeurs diagnostiques des tests IFF (FIDISTM anti-CCP) vs. ELISA (QUANTA Lite® anti-CCP3).

L'analyse de la courbe ROC montre que le test ELISA (QUANTA Lite® anti-CCP3) possède de bien meilleures performances diagnostiques (sensibilité et spécificité) que le dosage par IFF des IgG dirigées contre les

4 peptides pris séparément. Néanmoins, l'AUC qui se rapproche le plus de celle des IgG anti-CCP3 (0,867) est celle des IgG anti-VCP2 (0,837) suivie par celle des IgG anti-HCP2 (0,798) (Tableau 4 ; Figure 5).

	AUC	P	IC 95%
ELISA QUANTA Lite® anti-CCP3	0,867	< 0,0001	0,828 – 0,907
IFF FIDISTM anti-HCP1	0,775	< 0,0001	0,732 – 0,818
IFF FIDISTM anti-HCP2	0,798	< 0,0001	0,756 – 0,840
IFF FIDISTM anti-VCP1	0,715	< 0,0001	0,668 – 0,762
IFF FIDISTM anti-VCP2	0,837	< 0,0001	0,801 – 0,907

Tableau 4 : Calcul des AUC pour l'évaluation des performances diagnostiques des tests IFF (FIDISTM anti-CCP) vs. ELISA (QUANTA Lite® anti-CCP3).

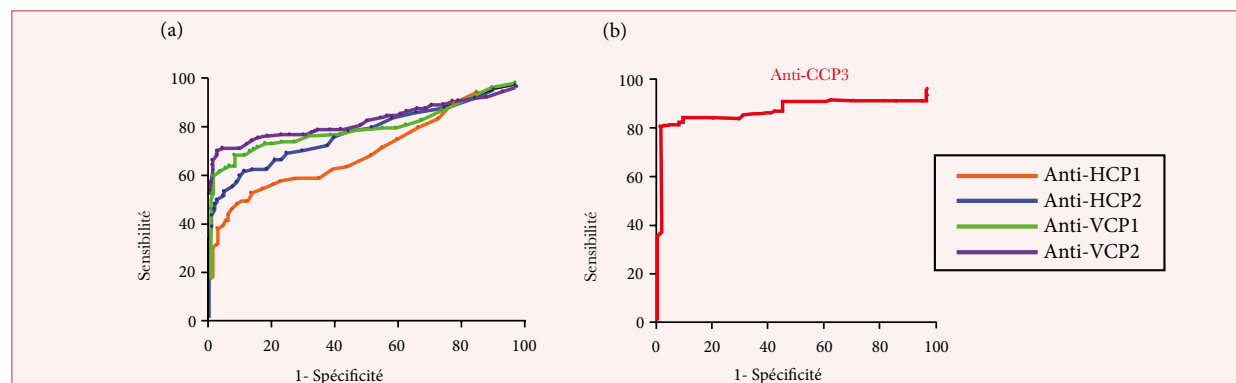


Figure 5 : Courbe ROC de la production des ACPA : (a). Courbe ROC de la production des ACPA mesurés par IFF ; (b). Courbe ROC de la production des IgG anti-CCP3 mesurées par ELISA.

4- Concordance globale entre les deux tests IFF et ELISA :

La concordance globale entre les 2 tests IFF et ELISA est de 91% pour le dosage par IFF des ACPA dirigés contre les 4 peptides et le dosage par ELISA des anti-CCP3, indiquant que les performances diagnostiques de ces 2 tests sont très comparables (Tableau 5).

	Concordance globale (%)
IFF FIDISTM anti-CCP (4 peptides)	91
IFF FIDISTM anti-HCP1	72
IFF FIDISTM anti-HCP2	80
IFF FIDISTM anti-VCP1	67
IFF FIDISTM anti-VCP2	87

Tableau 5 : Concordance globale entre les tests FIDISTM anti-CCP (IFF) vs. QUANTA Lite® anti-CCP3 (ELISA).

Quant aux résultats discordants, ils peuvent être expliqués par :

- Le choix du substrat antigénique dont la qualité dépend de :

- o **La nature de l'antigène citrulliné :**

- Synthétique pour l'ELISA (QUANTA Lite® anti-CCP3),
- Dérivé de l'histone H4 humaine pour l'IFF (HCP1 et HCP2),
- Dérivé du peptide 1 (VCP1) et du peptide 2 (VCP2) de l'EBNA (Epstein Barr Nuclear Antigen).

- o **Le nombre de résidus citrulline.**

- o **La localisation des résidus citrulline dans la chaîne peptidique modifiant la conformation linéaire de l'épitope.**

- Les conditions opératoires de la technique utilisée.

5- Corrélation entre la production des différents ACPA :

L'analyse des résultats obtenus montrent une corrélation positive entre la production des IgG anti-CCP3 et celle des IgG anti-HCP1 (r = 0,360), anti-HCP2 (r = 0,504), anti-VCP1 (r = 0,516) et anti-VCP2 (r = 0,565) (Tableau 6).

	ELISA QUANTA Lite® anti-CCP3		
	r de Spearman	p	IC 95%
IFF FIDISTM anti-HCP1	0,360	< 0,0001	0,249 – 0,462
IFF FIDISTM anti-HCP2	0,504	< 0,0001	0,407 – 0,590
IFF FIDISTM anti-VCP1	0,516	< 0,0001	0,420 – 0,600
IFF FIDISTM anti-VCP2	0,565	< 0,0001	0,476 – 0,643

Tableau 6 : Corrélation entre la production des ACPA

Discussion :

L'analyse des taux sériques moyens de production des ACPA, mesurés par IFF, chez les patients PR et les sujets contrôles, montre que les taux en IgG anti-HCP1 et anti-HCP2 sont significativement plus élevés chez les patients PR, rejoignant ainsi, les résultats publiés en 2013 par Pratesi et al [3], ou encore ceux publiés en 2016 par Johansson et al [6], décrivant une réactivité des ACPA avec les histones déiminées chez les patients atteints de PR.

Par ailleurs, les patients PR produisent, également, plus d'IgG anti-VCP1 et anti-VCP2 que les sujets contrôles et in vitro, les IgG anti-VCP1 se lient à la protéine recombinante EBNA-1 d'EBV et les taux en anticorps anti-EBV, en particulier, ceux dirigés contre la protéine EBNA-1 requise pour la réplication épisomale et la maintenance du génome viral, sont plus élevés chez les patients PR comparés aux sujets sains, comme cela a été démontré en 2007 par l'équipe de Toussiro et al [7]. Quant aux IgG anti-VCP2, elles se lient in vitro à la protéine recombinante EBNA-2 et leur taux de production est plus important chez les patients PR, comme décrit dans l'étude de Pratesi et al en 2011 [4], cette étude avait comparé la production des IgG anti-VCP2 chez les patients PR versus sujets sains et patients contrôles atteints d'autres pathologies. Toutefois, les sujets sains, tout comme les patients PR, ont cette aptitude de réagir contre la protéine EBNA-2 dont le polymorphisme cause les variations biologiques les plus significatives entre les 2 types de virus d'Epstein Barr. Cette protéine active en trans l'expression du marqueur d'activation CD23 du lymphocyte B et régule positivement l'expression du récepteur CD21 du virus et les gènes de latence

LMP-1 et LMP-2. Cette réactivité est due au fait que l'EBV, dans un environnement inflammatoire, peut être déiminé par la PAD4 et est capable de déclencher le développement d'une réponse immunitaire contre les protéines citrullinées [4]. De plus, l'EBV de type 2 est retrouvé presque exclusivement en Afrique et en nouvelle Guinée, tandis que le type 1 est de distribution ubiquitaire dans le monde [8]. Cela justifie la production

plus importante en IgG anti-VCP2 plutôt que les IgG anti-VCP1, dans notre population.

Quant à l'évaluation des valeurs diagnostiques de l'IFF pour le dosage des ACPA, aucun travail publié à ce jour n'a traité de ce dosage par IFF. Par conséquent, nous avons dû comparer nos résultats aux travaux ayant mesuré ces ACPA, dirigés contre les 4 peptides (HCP1, HCP2, VCP1 et VCP2), par ELISA (Tableau 7).

	Cible des ACPA	Notre étude 2017	Johansson et al, 2016 ^[6]	Cornillet et al, 2014 ^[9]	Panza et al, 2014 ^[10]	Pratesi et al, 2013 ^[3]	Pratesi et al, 2012 ^[5]	Bartoloni et al, 2012 ^[11]	Pratesi et al, 2011 ^[4]
Sensibilité (%)	HCP1	43,2*	37,3**	-	66**	67**	-	-	-
	HCP2	55,3*	48,5**	-	67**	63**	-	-	-
	VCP1	35,5*	36,1**	36**	57**	-	45**	-	-
	VCP2	71,1*	52,3**	-	64**	-	62**	61**	68**
Spécificité (%)	HCP1	98,8*	98,2**	-	-	95**	-	-	-
	HCP2	98,8*	98,2**	-	-	95**	-	-	-
	VCP1	97,6*	98,2**	98,5**	-	-	-	-	-
	VCP2	98*	98,2**	-	-	-	-	95**	97**

Tableau 7 : Tableau récapitulatif des valeurs diagnostiques des anti-CCP3 et ACPA obtenues dans notre étude et celles décrites dans la littérature. * IFF; ** ELISA

Enfin, cette IFF, nouvelle méthode de dosage, ne détecte toujours pas certaines spécificités antigéniques des ACPA et une partie des patients présentant des manifestations cliniques de la PR demeurent séronégatifs. Cependant, de nouveaux tests de détection des cibles antigéniques des ACPA ont été mis au point, notamment, le dosage des anticorps anti-protéines carbamylées (anti-CarP), chez les patients PR séronégatifs [12].

Conclusion :

Au terme de notre étude, il en ressort que l'IFF possède des performances diagnostiques comparables à celles de la technique ELISA en matière de dosage des ACPA, avec une excellente concordance. De plus, une corrélation positive existe entre la production des différents ACPA. Enfin, malgré la grande sensibilité des techniques de mesure des ACPA, il demeure des patients PR séronégatifs, chez lesquels il serait préférable de rechercher les anticorps anti-protéines carbamylées.

Bibliographie

- Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham CO, Birnbaum NS, Burmester GR, Bykerk VP, Cohen MD, Combe B, Costenbader KH, Dougados M, Emery P, Ferraccioli G, Hazes JMW, Hobbs K, Huizinga TWJ, Kavanaugh A, Kay J, Kvien TK, Laing T, Mease P, Menard HA, Moreland LW, Naden RL, Pincus T, Smolen JS, Stanislawska-Biernat E, Symmons D, Tak PP, Upchurch KS, Vencovsky J, Wolfe F, Hawker G. 2010 Rheumatoid Arthritis Classification Criteria. *Arthritis & Rheumatism* 2010; 62(9): 2569-81. DOI 10.1002/art.27584

- Wagner C, Sokolove J, Lahey L, Bengtsson C, Saevassdottir S, Alfredsson L, Delaney M, Lindstrom T, Walker R, Bromberg R, Chandra P, Binder S, Klareskog L, Robinson W. Identification of anticitrullinated protein antibody reactivities in a subset of anti-CCP-negative rheumatoid arthritis: association with cigarette smoking and HLA-DRB1 shared epitope alleles. *Annals of the Rheumatic Diseases* 2013; 74(3): 579-86.
- Pratesi F, Dionisi I, Tommasi C, Alcaro M, Paolini I, Barbetti F, Boscaro F, Panza F, Puxeddu I, Rovero P, Migliorini P. Antibodies from patients with rheumatoid arthritis target citrullinated histone 4 contained in neutrophils extracellular traps. *Annals of the Rheumatic Diseases* 2013; 73(7): 1414-22.
- Pratesi F, Tommasi C, Anzilotti C, Puxeddu I, Sardano E, Di Colo G, Migliorini P. Antibodies to a new viral citrullinated peptide, VCP2: fine specificity and correlation with anti-cyclic citrullinated peptide (CCP) and anti-VCP1 antibodies. *Clinical & Experimental Immunology* 2011; 164(3): 337-45.
- Pratesi F, Petit-Teixeira E, Sidney J, Teixeira V, Puxeddu I, Sette A, Cornelis F, Migliorini P. Effect of Rheumatoid Arthritis (RA) Susceptibility Genes on the Immune Response to Viral Citrullinated Peptides in RA. *The Journal of Rheumatology* 2012; 39(7): 1490-3.
- Johansson L, Pratesi F, Brink M, Årlestig L, D'Amato C, Bartaloni D, Migliorini P, Rantapää-Dahlqvist S. Antibodies directed against endogenous and exogenous citrullinated antigens pre-date the onset of rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2016; 18(1): 127.
- Toussierot E, Roudier J. Pathophysiological links between rheumatoid arthritis and the Epstein-Barr virus: an update. *Joint Bone Spine* 2007; 74: 418-26.
- Sample J, Young L, Marta B, Chatman T, Kieff E, Rickinson Q. Epstein-Barr virus types 1 and 2 differ in their EBNA-3A, EBNA-3B and EBNA-3C. *Genes J Virol* 1990; 64: 4084-92.
- Cornillet M, Verrouil E, Cantagrel A, Serre G, Nogueira L. In ACPA-positive RA patients, antibodies to EBNA35-58Cit, a citrullinated peptide from the Epstein-Barr nuclear antigen-1, strongly cross-react with the peptide β 60-74Cit which bears the immunodominant epitope of citrullinated fibrin. *Immunol Res* 2014; 61(1-2): 117-25.
- Panza F, Pratesi F, Valoriani D, Migliorini P. Immunoglobulin G Subclass Profile of Anticitrullinated Peptide Antibodies Specific for Epstein Barr Virus-derived and Histone-derived Citrullinated Peptides. *The Journal of Rheumatology* 2014; 41(2): 407-8.
- Bartoloni E, Alunno A, Bistoni O, Bizzaro N, Migliorini P, Morozzi G, Doria A, Mathieu A, Lotzniker M, Allegri F, Riccieri V, Alpini C, Gabrielli A, Tampona M, Gerli R. Diagnostic value of anti-mutated citrullinated vimentin in comparison to anti-cyclic citrullinated peptide and anti-viral citrullinated peptide 2 antibodies in rheumatoid arthritis: An Italian multicentric study and review of the literature. *Autoimmunity Reviews* 2012; 11(11): 815-20.
- Musset L, Ghillani-Dalbin P. La polyarthrite rhumatoïde : apport de la biologie au diagnostic et au suivi thérapeutique. *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée* 2013; 28(5-6): 281-6.