

UNIVERSITÉ DE SHERBROOKE

Un nouveau système auto-immun dans
la polyarthrite rhumatoïde:
le système Ta/anti-Ta

par

Pierre Dagenais MD

Département de Sciences cliniques

mémoire présenté à la Faculté de médecine
en vue de l'obtention du grade de
maître ès sciences (M.Sc.)

décembre 1993



National Library
of Canada

Acquisitions and
Bibliographic Services Branch

395 Wellington Street
Ottawa, Ontario
K1A 0N4

Bibliothèque nationale
du Canada

Direction des acquisitions et
des services bibliographiques

395, rue Wellington
Ottawa (Ontario)
K1A 0N4

Your file *Voire référence*

Our file *Notre référence*

The author has granted an irrevocable non-exclusive licence allowing the National Library of Canada to reproduce, loan, distribute or sell copies of his/her thesis by any means and in any form or format, making this thesis available to interested persons.

L'auteur a accordé une licence irrévocable et non exclusive permettant à la Bibliothèque nationale du Canada de reproduire, prêter, distribuer ou vendre des copies de sa thèse de quelque manière et sous quelque forme que ce soit pour mettre des exemplaires de cette thèse à la disposition des personnes intéressées.

The author retains ownership of the copyright in his/her thesis. Neither the thesis nor substantial extracts from it may be printed or otherwise reproduced without his/her permission.

L'auteur conserve la propriété du droit d'auteur qui protège sa thèse. Ni la thèse ni des extraits substantiels de celle-ci ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans son autorisation.

ISBN 0-315-93068-3

Canada

TABLE DES MATIÈRES

	PAGES
Table des matières	I
Liste des illustrations	IV
Liste des abréviations	VII
Résumé	X
1. INTRODUCTION	1
1.1 État des connaissances	6
1.1.1 Le système immunitaire	6
1.1.2 Auto-immunité	9
1.1.3 Techniques de détection des systèmes auto- immuns	12
1.1.4 Anticorps identifiés dans la PR	13
1.1.5 Marqueurs pronostics de la PR	18
1.1.6 Caractéristiques du système Ta/anti-Ta	23
1.2 Objectifs de l'étude	24
2. PATIENTS ET MÉTHODES	25
2.1 Patients et méthodologie clinique	25
2.1.1 Devis de l'étude.	25
2.1.2 Description de la population	28
2.1.3 Inclusion	32
2.1.4 Exclusion	33

	II
2.1.5 Éthique	34
2.1.6 Taille de l'échantillon	34
2.1.7 Indicateurs de mauvais pronostic	36
2.1.8 Manifestations cibles	39
2.2 Méthodes de laboratoire	40
2.2.1 Cultures cellulaires	41
2.2.2 Préparations d'extraits cellulaires et tis- sulaires	41
2.2.3 Electrophorèse en gel de polyacrylamide .	44
2.2.4 Électrotransfert	45
2.2.5 Immunoblot	46
2.2.6 Interprétation des IB	48
2.3 Fiabilité de l'immunoblot	51
2.4 Immunoprécipitation	55
2.5 Analyses statistiques	56
3. RÉSULTATS	58
3.1 Fiabilité de l'immunoblot	58
3.2 Composition du groupe témoin	59
3.3 Composition du groupe des patients rhumatoïdes	66
3.4 Sensibilité et spécificité de l'immunoblot pour la détection du système Ta/anti-Ta pour la PR .	69
3.5 Caractéristiques cliniques des patients rhumatoï- des porteurs du système autoantigénique Ta/anti- Ta	82

	III
4. DISCUSSION	90
4.1 Standardisation et fiabilité de l'immunoblot .	90
4.2 Sensibilité et spécificité du système Ta/anti-Ta pour la polyarthrite rhumatoïde	94
4.3 Valeur pronostique du système Ta/anti-Ta dans la polyarthrite rhumatoïde	101
4.4 Conclusion	104
 REMERCIEMENTS	 106
 RÉFÉRENCES	 107
 ANNEXE A	 130
 ANNEXE B	 131
 ANNEXE C	 132

LISTE DES ILLUSTRATIONS

	PAGES
FIGURE 1: Interprétation des résultats d'immunoblot standardisé pour le système auto-antigénique Ta/anti-Ta	50
TABLEAU 1: Tableau de contingence d'accord entre deux observateurs	54
TABLEAU 2: Fiabilité inter-observateurs	61
TABLEAU 3: Reproductibilité du test	62
TABLEAU 4: Fiabilité intra-observateur	63
TABLEAU 5: Caractéristiques des patients du groupe témoin	64
TABLEAU 6: Caractéristiques des patients rhumatoïdes...68	68
TABLEAU 7: Sensibilité et spécificité de l'immunoblot dans la détection des anti-Ta	72

FIGURE 2 :	Courbe "COR" pour le système auto-antigénique Ta	73
FIGURE 3 :	Dépistage du système auto-antigénique Ta anti-Ta chez les patients du groupe PR à l'aide de l'immunoblot.	75
FIGURE 4 :	Résultats des immunoprécipitations (IP) effectuées chez les 3 patients PR anti-Ta positifs et révélées à l'aide de l'IB .	77
FIGURE 5 :	Dépistage du système auto-antigénique Ta-anti-Ta chez les patients du groupe témoin à l'aide de l'immunoblot.	79
FIGURE 6 :	Résultat d'immunoprécipitation (IP), effectuée chez la patiente anti-Ta (+) du groupe témoins et révélé à l'aide de l'immunoblot .	81
TABLEAU 8 :	Caractéristiques cliniques des patients PR anti-Ta (+) et (-)	83

TABLEAU 9:	Fréquence des manifestations extra-articulaires chez les patients PR anti-Ta (+) et (-)	84
TABLEAU 10:	Caractéristiques de laboratoire des patients PR anti-Ta (+) et (-)	88
TABLEAU 11:	Manifestations cibles et marqueurs de sévérité chez les patients rhumatoïdes anti-Ta (+) et (-)	89

LISTE DES ABRÉVIATIONS

AIMS:	"Arthritis Impact Measurement Scale"
A.inf:	Arthrite infectieuse (bactérienne)
AKA:	Anticorps anti-kératine
ANA:	Anticorps anti-nucléaires
APs:	Arthrite Psoriasique
BK:	<u>Mycobacterium tuberculosis</u>
CAR:	Collège Américain de Rhumatologie
CD:	"Cluster differentiation"
CHUS:	Centre Hospitalier universitaire de Sherbrooke
CMH:	Complexe majeur d'histocompatibilité
COR:	Courbe de la caractéristique opérationnelle du résultat
CRP:	Protéine de l'inflammation C
Dtt:	Dithiothréitol
DO:	Densité optique
PR:	Polyarthrite rhumatoïde
EA:	Antigène précoce "Early Antigen"
EBNA:	Antigène nucléaire du virus Epstein-Barr
ELISA:	Test immunoenzymatique "Enzyme - Linked Immunosorbent Assay"
FR:	Facteur rhumatoïde
Go:	Goutte
HAQ:	"Health assessment questionnaire"
HLA:	Antigène leucocytaire humain

IB:	Immunoblot
IgG:	Immunoglobuline G
IP:	Immunoprécipitation
kD:	kiloDalton
LED:	Lupus érythémateux disséminé
MMTC:	Maladie mixte du tissu conjonctif
NK:	Cellule tueuse "Natural Killer"
OA:	Ostéoarthrose
OMS:	Organisation mondiale de la santé
PBS:	Tampon phosphate salin
PR:	Polyarthrite rhumatoïde
DE 52:	Diéthylaminoéthyle cellulose
PMSF:	Fluorure de Phénylméthylsulfonyl
RANA:	Antigène nucléaire de la polyarthrite rhumatoïde "Rheumatoid Arthritis Nuclear Antigen"
RAP:	Précipitine de la polyarthrite rhumatoïde "Rheumatoid Arthritis Precipitin"
RCT:	Récepteur antigénique des cellules T
RNP:	Ribonucléoprotéines
RPM:	Révolutions par minute
SA:	Spondylite ankylosante
SDS:	Dodécylsulfate de sodium
SS:	Syndrome de Sjögren
SSP:	Sclérose systémique progressive

T _A :	Cellule T auxiliaire
T _S :	Cellule T cytotoxique / suppressive
UMR:	Unité des maladies rhumatismales
VCA:	Antigène de la capsid virale "Viral Capsid Antigen"
VEB:	Virus Epstein-Barr
VS:	Vitesse de sédimentation des érythrocytes

RÉSUMÉ

La polyarthrite rhumatoïde (PR) est une maladie auto-immune chronique caractérisée par une arthrite des membres pouvant entraîner des déformations articulaires importantes. Cette maladie cause de l'incapacité sévère chez plus de la moitié des patients atteints depuis plus de vingt ans. Elle est aussi associée à une augmentation du taux de mortalité et cela principalement à cause de ses complications systémiques, telles que la vascularite, l'atteinte pulmonaire et l'amyloïdose rénale.

Il n'existe pas présentement de marqueur sérologique spécifique, permettant d'identifier les malades les plus à risque de développer des manifestations extra-articulaires. L'identification précoce de ces malades permettrait peut-être de prévenir, à l'aide d'une thérapie immunosuppressive plus agressive, les complications systémiques de même que la hausse de mortalité qui s'y rattache.

Le Dr. Ménard et ses collaborateurs ont identifié chez des patients rhumatoïdes, un nouveau système auto-immun nommé Ta/anti-Ta. Ce système est détecté à l'aide de l'immunoblot (IB), effectué à partir d'extraits de placenta humain ou de cellules HeLa en culture. Il semblait se retrouver plus fréquemment chez des patients avec PR présentant de nombreuses complications extra-articulaires.

Le but de la présente étude était de déterminer la sensibilité et la spécificité de ce système comme marqueur pronostic pour la PR.

Après standardisation et validation interne de la technique d'IB pour le système Ta/anti-Ta, une étude cas/témoin a été effectuée à l'aide de sérums entreposés dans la banque de sérum de l'unité des maladies rhumatismale du Centre Hospitalier Universitaire de Sherbrooke (CHUS). Un total de 403 patients ont été étudiés. Le groupe de patients avec PR vus au CHUS, consistait en une cohorte de 303 patients, assemblée de façon successive lors d'une étude précédente sur le système auto-immun Ro/anti-Ro. Le groupe témoin a été assemblé par échantillonnage aléatoire de la banque de sérums. Il était composé de 115 patients souffrants de diverse maladies rhumatismales autre que la PR, qui avaient été vus en clinique externe de rhumatologie du CHUS.

A la dilution de dépistage utilisée pour l'IB soit, 1:80, 3 des 277 patients avec PR étudiés étaient porteurs du système Ta/anti-Ta, donnant une sensibilité à 1.08%. Un seul des 115 patients du groupe témoin était positif pour ce système, donnant une spécificité à 99.1%. La différence de fréquence obtenue entre les deux groupes n'était pas statistiquement significative.

Les résultats positifs des patients PR ont pu être corroborés à l'aide d'une technique d'immunoprécipitation sur billes de protéine A-sépharose. Le sérum du patient du groupe

témoin dont le résultat d'IB était positif, n'a pas permis d'immunoprécipiter la protéine Ta. Ceci suggère que ce résultat était possiblement un artefact.

L'analyse des données cliniques des patients PR porteurs du système Ta/anti-Ta, a permis d'observer des différences statistiquement significatives entre le nombre moyen des manifestations extra-articulaires observées soit 2.33 chez ces patients par rapport à 0.62 ($p \leq 0.01$) chez les patients avec PR anti-Ta négatifs. Certains marqueurs sérologiques du pronostic de survie telle que la positivité du facteur rhumatoïde, la présence d'anticorps anti-nucléaires, la présence de leucopénie à moins que 4000×10^9 cellules/l de même que l'élévation des cryoglobulines, étaient aussi plus fréquents chez les 3 patients avec PR anti-Ta positif que chez les autres patients rhumatoïdes. ($p \leq 0.05$)

Le système Ta/anti-Ta détecté par IB est donc hautement spécifique, mais peu sensible pour le diagnostic de PR. La présence de ce système auto-antigénique semble associée à une maladie plus sévère, présentant de nombreuses manifestations extra-articulaires de même que des anomalies de laboratoire associées à un haut taux de mortalité. Une étude prospective sur un plus grand nombre de patients sera nécessaire pour confirmer ces observations.

1. INTRODUCTION:

La polyarthrite rhumatoïde (PR) est une maladie auto-immune systémique d'étiologie inconnue, caractérisée par un tableau inflammatoire principalement au niveau des articulations appendiculaires. Plusieurs autres organes peuvent aussi être affectés par cette maladie, dont la peau (nodosités rhumatoïdes, vascularite cutanée), les yeux (épisclérite) et les systèmes hématologique (neutropénie auto-immune avec splénomégalie) et neurologique (neuropathie inflammatoire) (Ryckewaert et Bardin, 1991).

C'est une maladie fréquente dont la prévalence aux États-unis est de 0.3 à 1.5% de la population (Harris, 1989). Elle est associée à un haut taux de morbidité attribuable aux déformations engendrées par la maladie et cause de la douleur chronique et de l'incapacité fonctionnelle chez les individus atteints. Après 20 ans d'évolution, près de la moitié des patients souffrent d'incapacité sévère (Scott et al. 1987). La PR engendre aussi des coûts socio-économiques importants pour l'ensemble de la société (Yelin et al.1980; Markenson, 1991). Plusieurs études ont aussi démontré une augmentation du taux de mortalité chez ces patients par rapport à la population générale avec une diminution de l'espérance de vie de 3 ans chez les femmes et de 7 ans chez les hommes (Vandenbroucke et al.1984).

Cette augmentation de la mortalité est attribuable principalement aux maladies infectieuses, avec une incidence de 9.4% chez les patients PR vs 1% dans la population générale, les maladies rénales (7.8% vs 1.1%), respiratoires (7.2% vs 3.9%) et gastro-intestinales (4% vs 2%). La mortalité attribuable aux néoplasies serait plus basse chez les patients PR (14% vs 20%) et identique à celle de la population générale pour les maladies cardio-vasculaires (40%) (Pincus, 1988).

L'augmentation de la mortalité infectieuse et gastro-intestinale serait attribuable aux médicaments (immunosuppresseurs, corticostéroïdes, anti-inflammatoires-non-stéroïdiens) utilisés dans le traitement de cette maladie. De 5 à 10% des décès seraient directement attribuables à la maladie, soit à l'amyloïdose, à la vascularite, de même qu'à la maladie pulmonaire rhumatoïde.

Le taux global de mortalité chez les patients avec PR est plus élevé que celui de la population générale. Dans une étude de cohorte comprenant 75 patients rhumatoïdes, Pincus et ses collaborateurs ont obtenu des ratios de mortalité normalisés de 1.86 à 5 ans et de 1.92 à 10 ans. (Pincus et al. 1994) La mortalité est beaucoup plus importante chez les patients présentant des complications extra-articulaires par rapport aux patients séronégatifs (ne possédant pas le facteur rhumatoïde) et ne souffrant pas de complications extra-articulaires (40% vs 12%) (Pincus, 1988).

Le diagnostic de la PR repose sur des critères diagnostiques cliniques obtenus par consensus (Ropes et al. 1958). Il n'existe pas présentement de test diagnostique spécifique, reconnu pour cette maladie. Les critères diagnostics du Collège Américain de Rhumatologie (CAR) sont basés essentiellement sur l'anamnèse, l'examen physique de même que sur des critères radiologiques et de laboratoire, telle que la détection du facteur rhumatoïde (FR).

Le FR est le premier marqueur immunologique qui a été identifié dans la PR. Bien que présent chez près de 80% des patients ce marqueur n'est pas spécifique de la maladie. Il peut être présent dans plusieurs pathologies rhumatismales et non rhumatismales (Dresner et Trombly, 1959; Shmerling et Delbanco, 1992).

Il existe plusieurs autres systèmes auto-antigéniques dans la PR. Aucun d'entre eux ne s'étant avéré parfaitement spécifique, ils ne pourront donc pas remplacer les critères diagnostiques cliniques actuels. Un test définitif qui remplacerait les critères diagnostiques, permettrait possiblement de reclassifier certains patients PR qui semblent former des sous-groupes distincts au sein de la maladie. On peut penser aux patients séronégatifs, présentant un tableau clinique moins sévère ou aux patients avec manifestations extra-articulaires importantes, telles les vascularites, qui forment l'autre extrémité du spectre de sévérité de la maladie.

Le Dr Ménard et ses collaborateurs ont décrit récemment un nouveau système auto-immun associé à la PR, appelé Ta/anti-Ta d'après le nom de la patiente chez laquelle il a été initialement identifié (Després et al. 1990a).

Des études préliminaires faites sur un petit nombre de patients souffrant de PR avaient démontré la présence du système Ta/anti-Ta chez 8 des 61 (13%) patients testés. Cet auto-anticorps ne se retrouvant chez aucun des patients rhumatismaux sans PR testés, il semblait donc spécifique pour la PR. Les données cliniques préliminaires indiquaient qu'il semblait être associé à des formes plus sévères de la maladie rhumatoïde, tel l'arthrite érosive sévère, de même qu'à la présence de vascularite systémique. Il devenait alors potentiellement intéressant pas tant au niveau diagnostique, à cause de sa fréquence plutôt basse, mais plutôt au niveau pronostic, comme marqueur potentiel de sévérité de la maladie.

La mortalité et la morbidité causées par la maladie ont peu changés depuis les 20 dernières années (Scott et al., 1987). Aussi, certains auteurs déçus par le peu de résultats obtenus au chapitre de l'amélioration du pronostic de la maladie rhumatoïde, ont récemment remis en question l'approche thérapeutique actuelle. Ces derniers ont prôné l'usage de traitements immunosuppresseurs en début de maladie, plutôt que l'approche classique, basée sur un traitement progressif. Le traitement classique débute par l'usage d'anti-inflammatoires non-stéroïdiens pendant plusieurs mois, suivis de traitements

immunosuppresseurs potentiellement plus toxiques. Un traitement immunosuppresseur précoce, incluant les corticostéroïdes, aurait pour objectif de freiner ce processus inflammatoire de façon radicale, dans le but théorique de prévenir les complications articulaires et extra-articulaires tardives (Wilske et Healey, 1989). Cette approche comporterait évidemment des risques, ceux associés à la toxicité (parfois mortelle) des médicaments immunosuppresseurs. Aussi, l'identification des patients les plus à risque de complications tardives, à l'aide d'un marqueur pronostic, permettrait de les traiter de façon préventive, à l'aide d'immunosuppresseurs ou de corticostéroïdes, tout en évitant les risques associés à cette approche thérapeutique aux patients ayant un bon pronostic.

La découverte d'un nouveau système auto-antigénique spécifique à la PR, permettrait aussi d'explorer de nouvelles avenues de recherche afin d'élucider la pathogenèse de cette maladie dont on ignore encore la cause.

Avant d'entreprendre une étude épidémiologique prospective d'envergure, il semblait d'abord indiqué d'entreprendre une étude pilote afin de déterminer le plus exactement possible, la sensibilité et la spécificité du système Ta/anti-Ta pour la PR et de réexaminer l'hypothèse selon laquelle il se retrouverait plus fréquemment chez des patients atteints d'une maladie sévère.

1.1 État des connaissances:

1.1.1 Le système immunitaire:

Le système immunitaire est composé chez l'être humain, d'un ensemble d'organes et de cellules qui ont pour rôle de défendre l'organisme contre l'agression par des agents infectieux ou toxiques.

Les substances capables d'induire une réponse spécifique du système immunitaire sont appelées antigènes. Ces derniers peuvent être constitués par des substances solubles, comme des toxines ou des protéines bactériennes ou de particules insolubles comme des bactéries et des tissus cellulaires (Dictionnaire de Médecine Flammarion, 1975).

Les cellules responsables de la réponse immunitaire sont dérivées de cellules pluripotentes de la moëlle osseuse qui peuvent se différencier en deux lignées distinctes, les cellules myéloïdes et les cellules lymphoïdes. Les cellules myéloïdes peuvent se différencier en cellules monocytaires, en granulocytes ou en plaquettes. Les cellules monocytaires sont composées de deux différents types de cellules, les cellules phagocytaires et les cellules présentatrices d'antigènes.

Les cellules phagocytaires ont pour rôle l'enlèvement des particules antigéniques par un mécanisme d'ingestion cellulaire, la phagocytose. Les cellules présentatrices d'antigène

ont pour rôle de présenter aux cellules lymphocytaires les antigènes digérés et couplés à des récepteurs spécifiques.

La lignée lymphoïde peut se différencier en deux types cellulaires, les lymphocytes T et les lymphocytes B. Les lymphocytes T se différencient des cellules lymphoïdes indifférenciées en cellules T matures, dans le thymus, un organe lymphoïde situé dans le thorax. Cet organe exerce aussi une sélection des lymphocytes T, en éliminant les cellules qui peuvent réagir contre des constituants cellulaires de l'hôte, induisant ainsi une tolérance immunologique des cellules T envers les constituants du soi. Les lymphocytes T peuvent être différenciés des lymphocytes B, par la présence de marqueurs polypeptidiques de surface dont le plus spécifique est le Récepteur Antigénique des Cellules T (RCT). Le système RCT peut se diviser en deux différents types (RCT 1 et 2). § sont associés à un autre complexe polypeptidique le CD3.

Près de 95% des lymphocytes T sont porteurs du RCT 2, tandis que les autres sont porteurs du RCT 1. Les lymphocytes T porteurs de RCT 2 peuvent être subdivisés en deux autres catégories: 1- les cellules CD 4⁺, aussi appelées les cellules T auxiliaires (T^A), jouent un rôle important dans la reconnaissance des antigènes lorsqu'ils sont associés à la surface des cellules présentatrice d'antigènes au complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de classe 2. Les cellules CD 8⁺, aussi appelées les cellules T cytotoxiques/suppressives (T_C/T_S),

peuvent reconnaître les antigènes présentés en association avec le CMH de classe 1.

Les lymphocytes T sont responsables de l'immunité cellulaire. Les cellules T auxiliaires activées par le contact avec l'antigène couplé au CMH de classe 2 vont produire des messagers chimiques, les cytokines, qui moduleront l'activité de différentes cellules effectrices: les cellules tueuses (NK), les cellules cytotoxiques, les macrophages et les granulocytes. C'est l'activation des macrophages et des granulocytes qui joue un rôle majeur dans l'inflammation synoviale observée dans la PR. Les cellules cytotoxiques agissent en détruisant les cellules de l'hôte infectées par des virus (Lydyard et Grossi, 1989).

Les cellules T suppressives, jouent un rôle dans la régulation de l'activité lymphocytaire T effectrice, plus particulièrement au niveau de l'interaction entre T_A et lymphocytes B, modulant ainsi la production d'anticorps.

Les lymphocytes B, dont la maturation se fait au niveau médullaire chez l'humain, sont les cellules responsables de la production d'anticorps ou immunoglobulines. Les lymphocytes B sont responsables de l'immunité humorale. Avant de produire des anticorps, ces cellules doivent être activées soit directement, après contact avec l'antigène présenté par une cellule présentatrice ou plus généralement, sous l'influence de cytokines produites par les lymphocytes T_A . Elles se différen-

cieront alors en plasmocytes qui produiront des immunoglobulines (Lydyard et Grossi, 1989).

Il existe 5 classes d'immunoglobulines: IgM, IgG, IgE, IgA, IgD. Ce sont des glycoprotéines qui ont pour fonction de fixer les antigènes par l'extrémité amino (N) terminale et de les lier aux tissus de l'hôte par l'extrémité carboxyle (C) terminale . Elles se fixent à différentes cellules du système immunitaire, aux cellules phagocytaires de même qu'à la première composante (C1q) du système du complément entraînant ainsi une activation de la voie classique du complément (Turner, 1989).

1.1.2 Auto-immunité:

Il arrive parfois que la tolérance immunologique pour les constituants antigéniques de l'hôte soit rompue. Ceci entraîne la production de lymphocytes T auto-réactifs et la production par les lymphocytes B d'auto-anticorps (Roitt, 1989).

On distingue deux formes d'auto-immunité: naturelle et pathologique. L'auto-immunité dite naturelle ou physiologique, se caractérise par la production, à faible titre, d'anticorps dirigés contre des structures antigéniques de l'hôte sans entraîner de conséquences pathologiques. Ces anticorps seraient encodés dans les lignées germinales, donc présents de façon précoce dans l'ontogénie cellulaire B. Ils seraient générale-

ment de classe IgM, bien qu'on puisse retrouver des anticorps de type IgG ainsi que des IgA (Sénécal et al., 1993). Ces anticorps sont polyspécifiques, ils peuvent réagir de façon plus ou moins intense avec plusieurs structures antigéniques à la fois. La détection de ces anticorps serait facilitée chez les patients souffrant de maladies produisant une stimulation polyclonale des cellules B, telles certaines néoplasies hématologiques, les myélomes (Dighiero et al. 1982), les maladies virales, bactériennes et parasitaires (Adib-Conquy et al. 1993). Leur rôle est probablement relié aux mécanismes primaires de défense contre les agents infectieux. Ils peuvent aussi faciliter l'élimination d'antigènes provenant de la destruction cellulaire. On leur attribue aussi un rôle possible dans le rétro-contrôle de la production d'anticorps par l'intermédiaire d'anticorps anti-idiotypes. Les idiotypes étant des déterminants antigéniques situés dans la partie variable des anticorps qui sert à fixer les antigènes.

L'auto-immunité pathologique est caractérisée par la présence d'anticorps qui ont la propriété de produire des maladies. Ils peuvent être associés à des maladies auto-immunes spécifiques d'organe comme dans la thyroïdite d'Hashimoto ou à des maladies systémiques auto-immunes telles le lupus érythémateux disséminé (LED). Le type d'anticorps généré est généralement de classe IgG. Ils sont spécifiques d'un antigène avec lequel il présente une haute affinité (Roitt, 1989). Ces

anticorps peuvent dans plusieurs cas se retrouver au niveau des lésions tissulaires associées à la maladie auto-immune.

Sur le plan génétique, des mutations somatiques au niveau de la région codante pour les anticorps naturels d'isotype IgM qui favoriseraient l'apparition d'anticorps de d'isotype IgG auto-réactifs (Tron et Bach, 1991).

Il ne faudrait pas attribuer aux seuls lymphocytes B toute la responsabilité de la production des anticorps auto-réactifs. D'autres mécanismes intervenant au niveau du système immunitaire cellulaire peuvent expliquer la stimulation polyclonale lymphocytaire B observée dans les maladies non spécifiques d'organes comme le LED et la PR. Ainsi une diminution du nombre des cellules T CD 8₊, les cellules T suppressives, a été observée dans la PR (Tron et Bach, 1991). Une augmentation de l'activité T_A a aussi été observée dans les maladies auto-immunes non-spécifiques d'organe, dont le LED.

Finalement il existe un réseau de rétro-contrôle physiologique composé d'anticorps dirigés contre les idiotypes des immunoglobulines. Leur rôle serait de régulariser la réponse des Ig dirigés contre les antigènes du soi. Un dérèglement de ce système de rétro-contrôle surviendrait au cours des maladies auto-immunes systémiques.

Ainsi des auto-anti-idiotypes spontanés dirigés contre les auto-anticorps sont observés dans diverses maladies auto-immunes (Tron et Bach, 1991).

1.1.3 Techniques de détection des systèmes auto-immuns:

Les techniques de détection des systèmes auto-immuns utilisées initialement étaient l'immunofluorescence, l'immunodiffusion radiale et l'immuno-agglutination de globules rouges ou de billes de produits synthétiques tel que le latex. Depuis, le raffinement et l'apparition de nouvelles techniques immunologiques ont permis d'identifier de nombreux autres systèmes auto-immuns (Dunbar et Schwoedel, 1990): l'immunoblot (IB), les tests immunoenzymatiques ou ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay), l'immunoprécipitation (IP), les anticorps monoclonaux etc..

Selon la nature de l'antigène retrouvé dans le système auto-immun, certaines techniques de détection seront plus adéquates, sensibles et spécifiques que d'autres.

Parmi les techniques mentionnées plus haut, l'IB est l'une des méthodes les plus spécifique pour étudier de nouveaux systèmes auto-immuns. Cette spécificité demeure par contre théorique, cette technique se fait habituellement en conditions dénaturantes, soit en présence d'un détergent qui dénature la protéine, la linéarise.

Les anticorps détectés par l'IB sont donc dirigés contre des segments polypeptidiques et non pas contre la protéine native.

Cette méthode est aussi reconnue comme étant hautement sensible pour certains systèmes antigéniques surtout de nature exogène, comme les protéines virales ou bactériennes.

Cette sensibilité de la méthode semble plus variable selon la nature de l'auto-antigène étudié et demande parfois un laborieux travail de standardisation (Senécal et al. 1993).

1.1.4 Anticorps identifiés dans la PR:

Plusieurs systèmes anticorps-antigènes ont été décrits dans la PR. Cette maladie est caractérisée par une stimulation polyclonale des lymphocytes B qui tel que mentionné plus haut, produiront alors une grande diversité d'anticorps. La majorité d'entre-eux sont non spécifiques, c'est-à-dire qu'ils pourront se retrouver dans d'autres maladies auto-immunes et n'ont probablement peu ou pas de conséquences pathogéniques (Senécal et al. 1993).

Certains de ces anticorps sont dirigés contre des antigènes exogènes provenant d'agents infectieux dont on suspecte un possible rôle étiologique. Parmi ces agents infectieux mentionnons les virus Epstein-Barr (VEB), celui de la rubéole, le parvovirus B19 et les bactéries comme le Mycoplasma sp. le Mycobacterium tuberculosis (BK). La plupart de ces anticorps sont non spécifiques pour la PR. Ils se retrouvent chez des

patients infectés non rhumatoïdes, des patients souffrant de pathologies diverses, telles des néoplasies hématologiques associées au VEB (Henle et al.1979) de même qu'une grande proportion de la population saine.

Parmi les systèmes d'anticorps non spécifiques contre le VEB, (anti-VCA, anti-EA, anti-EBNA), on a décrit un système antigénique appelé anti-RANA (SS-C/RAP) (RANA, Rheumatoid Arthritis Nuclear Antigen). La prévalence de l'anti-RANA dans la PR varierait selon les études entre 67 à 94% vs. 6 à 54% des contrôles (Venables, 1988).

Certaines composantes peptidiques de ces micro-organismes, présenteraient des similitudes importantes au niveau d'une partie de la séquence de leurs acides aminés, avec des structures antigéniques humaines retrouvées dans le système histocompatibilité, les HLA-Dr 1 et Dr 4. Ce sont la glycoprotéine gp110 du VEB (Roudier et al.1988; Roudier et al.1989) ou la protéine de stress (heat shock protein) du BK (van Eden et al.1988; Bahr et al.1988; Tsoulfa et al. 1989). Ce phénomène appelé le mimétisme moléculaire permettrait d'expliquer, en partie du moins, le phénomène de l'auto-immunité caractéristique de cette maladie.

D'autres systèmes auto-immuns n'impliquant pas des micro-organismes ont été décrits dans la maladie. Ils peuvent être divisés en auto-anticorps dirigés contre des structures extracellulaires ou circulantes et des systèmes d'anticorps dirigés contre des structures cellulaires.

Voici une liste abrégée de systèmes auto-immuns dirigés contre des antigènes extra-cellulaires ou circulants : le FR, les anticorps anti-collagène de type I, II, IX et XI (Menzel et al. 1978; Tretham et al. 1978; Stuart et al. 1983; Morgan et al. 1987), les anti-cardiolipine (Fort et al. 1987), les anti-interleukine-1 α (Suzuki et al. 1990) et anti-lipocortin-1 (Goulding et al. 1989), les anticorps anti-idiotypes qui sont dirigés contre la partie variable des Ig (Savage et al. 1987; Marnell et al. 1990).

Le FR a été le premier de ces systèmes décrit dans la PR. Il correspond à une famille d'anticorps dirigés contre la portion Fc des IgG humaines. Bien que faisant partie des critères diagnostics pour la maladie, il est généralement admis qu'à faible titre le FR n'est pas très spécifique pour la PR. Il peut s'avérer positif dans une grande variété de maladies rhumatismales et non-rhumatismales de même que chez des individus âgés sains (Dresner et Trombly, 1959; Howell et al. 1960, Kundel et al. 1958). La spécificité du FR pour la PR augmenterait avec le titre de dilution utilisé. A une dilution de sérum excluant près de 95% de la population normale, 70% des patients rhumatoïdes diagnostiqués à l'aide de critères cliniques autres que le FR, sont positifs pour ce test (Laurence, 1977).

Le système d'anticorps anti-kératine (AKA) identifié à l'aide d'IF sur tissu animal se distingue par sa spécificité possible pour la PR (Young et al. 1979; Vincent et al. 1989).

Une étude récente aurait trouvé une spécificité de 99% pour une sensibilité de 45%. La détection des AKA s'est avérée particulièrement utile pour identifier les patients FR négatifs (Kirstein et Mathiesen, 1987). Ces résultats demeurent néanmoins controversés, puisque certains auteurs ont identifié des AKA dans d'autres pathologies rhumatismales que la PR (Quismorio et al. 1983).

Parmi les anticorps dirigés contre des structures cellulaires, on note, les anticorps dirigés contre les granules périnucléaires de cellules épithéliales buccales humaines, identifiées à l'aide d'immunofluorescence indirecte (Sondag-Tschroots et al. 1979; Janssens et al. 1988; Vivino et Maul, 1990), les anticorps dirigés contre les muscles lisses qui serait peu sensible dans la PR (Andersen et al. 1980), les anticorps antinucléaires (ANA) (Ward et al. 1964): anti-Ro/SS-A (Boire et Ménard, 1988), anti-histones (Cohen et Webb, 1989), anti-RNP (Montecucco et al. 1990, Steiner et al. 1992) et les anti-ENA, (Venables et al. 1980). On retrouve aussi dans la PR, les anti-filaments intermédiaires (Osung et al. 1982), les anticorps anti-protéines de surface des chondrocytes (Mollenhauer et al. 1988), anti-cellules synoviales (Pérez-Maceda et al. 1988) et anti-protéines d'histocompatibilité humaine (HLA-DR) (Savage et al. 1987).

Les anticorps anti-Hat-1, dirigé contre une protéine dont la masse moléculaire est d'approximativement 150 kDa identifié par immunodiffusion radiale, à partir d'extraits salins de foie

humain et de foie de rat, semblait présenter une très haute spécificité pour la maladie chez les patients japonais étudiés (Abe et al. 1988). Un groupe français a récemment identifié de nouveaux systèmes auto-antigéniques au niveau du liquide synovial de patients avec PR, à l'aide de l'IB. L'un de ces systèmes était dirigé contre une molécule de poids moléculaire semblable (≈ 150 kDa) à celui de la protéine Ta (Lafyatis et al. 1992).

Ménard et ses collègues travaillent aussi présentement sur un autre système anti-protéine (Sa/anti-Sa), identifié à partir d'extraits de rate et de placenta humains, qui serait aussi hautement spécifique dans la PR (Després et al. 1990a; Després et al. 1990b). Il existe aussi un nombre croissant d'autres systèmes auto-antigéniques qui sont mal caractérisés et dont la spécificité pour la PR reste à déterminer.

1.1.5 Marqueurs pronostics de la PR:

Il n'existe pas de marqueur de pronostic dans la PR. L'élaboration d'études prospectives, qui permettraient d'identifier des marqueurs pronostics valables comporte plusieurs difficultés d'ordre pratique et méthodologique.

Il est difficile d'assembler des cohortes contenant un grand nombre de patients sans perdre au cours des années, voire des décennies de l'étude, des individus de cette cohorte, rendant ainsi difficile l'interprétation des résultats.

Il y a aussi des difficultés méthodologiques importantes à surmonter pour mener des études prospectives de bonne qualité. Ces cohortes devraient idéalement être constituées de patients nouvellement diagnostiqués et à un stade précoce de la maladie. Une telle cohorte peut prendre plusieurs années à assembler. D'autres difficultés méthodologiques telles que le système de référence, selon qu'il s'agit d'une étude faite dans un centre universitaire ou dans un milieu moins spécialisé, la détermination de critères précis d'évaluation des manifestations cibles, de même que la présence de nombreux facteurs de confusion (médication, comorbidités etc.), rendent ces études coûteuses et difficiles à mener (Sackett et al. 1991). Les résultats obtenus après de nombreuses années d'efforts sont parfois difficilement généralisables.

Aussi de nombreux auteurs se sont-ils contentés d'utiliser une méthodologie moins sophistiquée, telle l'étude prospective

historique et l'étude cas/témoin, afin d'aborder le problème du pronostic dans la PR.

Par soucis de simplification, j'ai regroupé le pronostic de la PR en deux catégories:

1- Le pronostic fonctionnel, qui ne concerne que les incapacités physiques relatives aux douleurs chroniques, ankylose et déformations engendrées par la maladies.

2- Le pronostic de survie, concerne la mortalité attribuable à la PR, de même qu'aux complications morbides associées. Comme on le verra plus loin, les complications extra-articulaires de la maladie seraient associées à une augmentation de la mortalité chez les patients affectés.

Les facteurs de prédiction utilisés peuvent être divisés en 4 catégories pour l'un et l'autre type de pronostic: les marqueurs démographiques, cliniques, radiologiques et de laboratoire.

Il serait difficile de citer de façon extensive les dizaines d'études publiées sur le pronostic de la PR.

Aussi, ne seront citées que les études dont la méthodologie était adéquate.

Pour ce qui est du pronostic fonctionnel, certains facteurs démographiques font l'unanimité comme prédicteurs de mauvais pronostic. Ce sont la race blanche (caucasienne) (Feigenbaum et al. 1979), le sexe féminin (Feigenbaum et al. 1979; Young et al. 1984), et le début de la maladie après l'âge

de 50 ans (Fleming et al. 1976; van Der Heijde et al. 1991; Sherrer et al. 1986).

Sur le plan clinique un patron d'apparition de la maladie au début insidieux plutôt qu'aigu serait de mauvais pronostic (Fleming et al. 1976). La présence de perte de poids (Feigenbaum et al. 1979), de phénomène de Raynaud (vasospasme artériolaire périphérique au froid) (Feigenbaum et al. 1979; Fleming et al. 1976) de même que la présence de nodosités rhumatoïdes (Masi et al. 1976) ont été associés à une évolution défavorable sur le plan fonctionnel. Il ne semble pas y avoir de relation claire entre le patron d'atteinte articulaire et le pronostic fonctionnel à long terme.

Au niveau radiologique, il y a consensus entre les auteurs pour affirmer qu'une atteinte articulaire érosive progressant rapidement pendant les premières années de la maladie est de mauvais pronostic fonctionnel. (Fleming et al. 1976; Kaarala, 1985)

Sur le plan des tests de laboratoire, les patients avec PR séropositifs, porteurs de FR de type IgM ont un moins bon pronostic fonctionnel lorsqu'on les compare à des patients séronégatifs (van Der Heijde et al. 1988).

Les FR IgA (Teitsson et al. 1984), et IgG (Withrington et al. 1984) sont associés à une atteinte articulaire plus sévère.

Le marqueur génétique HLA-DR 4 faisant partie du complexe majeur du CMH de classe 2, est plus fréquent dans la PR. On le retrouverait plus spécifiquement chez les individus souffrant

de maladie plus sévère et plus débiliteuse sur le plan fonctionnel (Young et al. 1984).

Les autres tests de laboratoire associés au mauvais pronostic fonctionnel de la PR sont des tests non spécifiques, c'est-à-dire qu'ils peuvent être positifs dans diverses connectivites, au cours d'infections ou en présence de néoplasies telles les néoplasies hématologiques. Il s'agit de la vitesse de sédimentation des érythrocytes (VS) (Fleming et al. 1976; Kaarala, 1985), l'élévation des protéines de l'inflammation (CRP: "C réactive proteins") (Isomaki et al. 1984), les anticorps anti-nucléaires (ANA) (Masi et al. 1976), la présence d'anémie normochrome normocytaire (Fleming et al. 1976; Kaarala, 1985), de même que l'élévation de certaines composantes du complément telles les C1q (Ochi et al. 1980).

Les études de pronostic de survie dans la PR sont moins nombreuses que les études sur le pronostic fonctionnel. Elles sont possiblement plus difficiles à mener, puisque généralement de plus longue durée que les études sur le pronostic fonctionnel.

Parmi les marqueurs démographiques, l'âge du début de la maladie, moins de 50 ans, en association avec le sexe masculin (Cobb et al. 1953) de même que la longue durée de la maladie (Symmons et al. 1986; Uddin et al. 1970) seraient d'importants facteurs de risque de mortalité précoce. Sur le plan clinique, une maladie précocement invalidante tel que mesurée à l'aide d'index d'invalidité comme par exemple l'index de Stein-

bröcker, le HAQ ou le AIMS, est associée à une moins bonne survie chez les patients PR (Leigh et Fries, 1991; Meenan et al. 1980; Rasker et Cosh, 1989).

La présence de vascularite ou d'autres manifestations extra-articulaires de la maladie telles que épisclérites, nodosités rhumatoïdes, splénomégalie, lymphadénopathies, fibrose pulmonaire, ulcères cutanés, péricardite, amyloïdose rénale, diminuerait aussi la survie des patients (Erhardt et al. 1989; Rasker et Cosh, 1989; Gordon et al. 1973). Ces manifestations nécessitent souvent l'usage de corticostéroïdes. Ce traitement est en soit un facteur important de comorbidité à cause de ses effets secondaires et du risque d'infection associé à son utilisation (Pincus et al. 1987). L'utilisation de prednisone chez des patients souffrant de vascularite rhumatoïde serait associée à une augmentation de la mortalité (Mittchell et al. 1986).

Sur le plan des tests de laboratoire, certaines études ont mentionné que de hauts titres de FR sont un signe de maladie plus sévère (Mittchell et al. 1986; Rasker et Cosh, 1989) et cela plus spécifiquement en début de maladie (Harris, 1989).

Dans d'autres études, généralement menées sur un petit nombre de patients à l'aide de devis cas/témoin, la présence d'ANA à haut titre (Linn et al. 1978), l'hypocomplémentémie (Hunder et McDuffie, 1973) ainsi que la présence d'une cryoglobulinémie (Erhardt et al. 1989; Weisman et Zvaifler,

1975) seraient des facteurs non-spécifiques de mauvais pronostic de survie.

1.1.6 Caractéristiques du système Ta/anti-Ta:

Les anti-Ta sont des anticorps dirigés contre une protéine d'approximativement 160 kDa, dont la nature exacte est indéterminée. La nature protéinique de l'antigène a été déterminée à l'aide d'études enzymatiques à la protéinase K, menées par M. N. Després. La cible de ce nouveau système auto-antigénique se trouve détruite en présence de protéinase K, mais demeure intacte en présence de DNases ou de RNases. Le Ta se retrouve dans plusieurs extraits tissulaires bruts ou semi-purifiés sur résine échangeuse d'ion (DE 52). Ainsi en retrouve-t-on dans des extraits totaux de cellules HeLa en culture. La protéine se retrouve aussi dans diverses fractions cellulaires de cellules HeLa, soit au niveau d'extraits cytoplasmiques de même qu'au niveau d'extraits de noyaux isolés par centrifugation. On retrouve cette protéine dans différents extraits de tissus humains semi-purifiés; dans le placenta, la rate, de même qu'au niveau de la membrane synoviale.

Une étude menée sur une lignée lymphocytaire infestée par le VEB (BL 41) a permis de distinguer ce système du système anti-EBNA associé à la PR tel que discuté plus haut. Enfin, l'exposition de cellules HeLa à un stress thermique, le réchauffement du milieu de culture de 37 à 42 °C de façon

prolongée, a produit une diminution de la quantité de Ta retrouvée à l'immunoblot dans ces extraits totaux, ce qui élimine la possibilité que cette protéine soit une protéine dite de stress (Després et al., 1990a).

1.2 Objectifs de l'étude:

L'objectif principal de cette recherche était de déterminer la valeur diagnostique et pronostique du système auto-immun Ta/anti-Ta pour la PR.

Les objectifs secondaires étaient:

- 1- De standardiser et de tester la fiabilité de la technique d'immunoblot utilisée pour détecter ce système.
- 2- De déterminer la sensibilité et la spécificité de ce système pour la PR.
- 3- De décrire les caractéristiques cliniques des patients rhumatoïdes porteurs de cet anticorps.

2. PATIENTS ET MÉTHODES

2.1 Patients et méthodologie clinique:

2.1.1 Devis de l'étude:

Il s'agit d'une étude exploratoire, de type cas /témoins, faite à partir d'une banque de sérums de patients souffrant de PR et de diverses maladies rhumatismales.

L'étude cas/témoins permet de comparer chez deux groupes de sujets dont l'un est atteint d'une maladie, les cas, et l'autre en est exempt, les témoins, la présence d'une caractéristique d'intérêt, en l'occurrence la présence d'anticorps dirigés contre la protéine Ta. Nous avons choisi de faire ce type d'étude parce qu'il est particulièrement utile pour évaluer un nouveau test diagnostique (Hulley et Cummings, 1988). Il peut se faire plus rapidement, à moindres coûts et avec moins de problèmes d'organisation logistique qu'une étude de cohorte. Les études de cohortes prennent plusieurs années et jusqu'à des décennies dans le cas d'une maladie chronique relativement rare comme la PR avant de pouvoir observer les manifestations cibles attendues. Elles se prêtent mal à un projet de maîtrise dont la durée est limitée, sauf si l'étude est déjà en cours depuis plusieurs années (Fletcher et al., 1988) ce qui n'était pas le cas présentement.

Le devis cas/témoins se prête bien à l'étude de maladies rares. Il comporte par contre une difficulté majeure, celle de la représentativité des groupes de sujets sélectionnés. Il existe différentes stratégies pour diminuer le biais de sélection des cas et des témoins. Dans notre étude la représentativité du groupe cas a été assurée par la sélection de tous les patients avec PR vus au CHUS dans un intervalle de temps donné. Nous sommes conscient par contre que les résultats de l'étude ne s'appliqueront qu'à des patients vus en centre universitaire. On aurait pu aussi ne sélectionner de façon aléatoire qu'un sous-groupe de cette cohorte de patients avec PR. Ce type de sélection comporte des risques, il laisse au hasard le soin de sélectionner un échantillon représentatif.

La sélection des témoins est encore plus difficile. Différentes techniques peuvent être utilisées afin de diminuer les biais. Ce sont l'utilisation de plusieurs groupes témoins selon leur lieu de recrutement soit les patients vus à l'urgence, en clinique externe etc. ou l'utilisation d'un seul groupe témoin sélectionné à partir de la population générale de façon aléatoire. On peut aussi sélectionner les patients de façon arbitraire selon leur disponibilité. L'échantillon retenu est alors peu représentatif de la population visée (Hulley et Cummings, 1988).

Nous avons choisi de sélectionner les témoins à partir de sujets dont les sérums étaient contenus dans la banque de sérums de l'UMR. Ces patients ne représentent pas l'ensemble

des patients vus en clinique externe de rhumatologie, mais seulement une fraction d'entre-eux nécessitant une investigation sérologique particulière à des fins diagnostiques ou de suivi d'une condition rhumatismale connue. Nous avons décidé d'assembler un groupe de témoins dont les maladies sont le plus fréquemment confondues avec la PR. Cette sélection offre comme avantage d'augmenter de beaucoup la valeur de l'étude de spécificité du test de détection des anticorps anti-Ta (Sackett et al., 1991). En effet ce test ne serait probablement utilisé que pour l'investigation de patients présentant une condition rhumatismale pouvant être confondue avec la PR.

Par contre cette sélection arbitraire des témoins ne reflète pas la prévalence réelle des différentes maladies rhumatismales vues en clinique externe de rhumatologie. L'utilisation de valeurs théoriques de prévalence serait inadéquate compte tenu de la variété des diagnostics retrouvés dans le groupe témoin. Il nous est donc impossible de calculer la valeur prédictive du test anti-Ta dans la présente étude (Fletcher et al., 1988).

2.1.2 Description de la population et critères d'éligibilité:

2.1.2.1 Patients:

Le groupe de patients avec PR utilisé pour l'étude avaient déjà été assemblé lors d'une étude précédente sur le système Ro/anti-Ro, menée par le Dr. G. Boire MD, MSc. Il consistait en un groupe de patients répondant aux critères diagnostics du CRA pour la PR, assemblés de façon successive du 1^{er} novembre 1985 au 30 mai 1987 en clinique externe de rhumatologie au Centre Hospitalier Universitaire de l'Université de Sherbrooke (CHUS), par l'un des 4 rhumatologues du service de rhumatologie. Il s'agissait d'une cohorte de 278 patients rhumatoïdes adultes (18 ans et plus), satisfaisant aux critères diagnostics du CAR, (Ropes et al. 1958) chez lesquels des prélèvements sanguins avaient été effectués au centre hospitalier.

La technicienne de laboratoire en avait ensuite extrait les sérums par centrifugation à 2000 RPM pendant 15 min. Ils ont alors été séparés dans des contenants de 2 ml, codifiés et entreposés dans un congélateur à -20°C, dans la banque de sérums de l'unité des maladies rhumatismales.

Les dossiers de chacun de ces patients ont été révisés, afin de recueillir de façon rétrospective les données pertinentes pour l'étude sur le système Ro anti-Ro. Vous trouverez en annexe A, le protocole de recueil des données démographiques et cliniques (signes et symptômes, laboratoire,

radiologie, thérapie) utilisé au moment de cette étude. Ces données ont été recueillies par le Dr Gilles Boire, rhumatologue, de même que par une étudiante d'été sous sa supervision.

2.1.2.2 Témoins:

Le groupe témoin a été assemblé à l'aide d'un échantillonnage aléatoire stratifié de sérums de la banque de sérums. Il s'agissait de patients adultes, vus en clinique externe de rhumatologie du CHUS, souffrant de pathologies rhumatismales autres que de la PR. Les sérums ont été prélevés pour évaluation sérologique dans le cadre de la pratique rhumatologique en clinique externe au moment de la visite, soit dans un but diagnostic ou pour des fins de monitoring d'une condition rhumatologique.

L'échantillonnage des patients témoins s'est faite par ordinateur grâce au logiciel DBase IV et à une base de données contenant les quelques 14,700 sérums de la banque au moment de la sélection des cas. Lorsque plus d'un sérum du même patient était sélectionné par l'ordinateur, seul le sérum le plus récent a été évalué.

L'échantillonnage aléatoire avait pour but de recueillir des témoins présentant une grande variété de durée et de sévérité dans leurs maladies respectives tel que retrouvé dans le groupe des patients avec PR.

La stratification s'est faite en fonction des différentes pathologies rhumatismales pouvant le plus fréquemment être confondues avec la PR. Quatorze catégories diagnostiques ont été établies sur la base de la disponibilité de critères diagnostiques reconnues, soit les critères du CAR ou en leur

absence, de critères retrouvés dans la littérature rhumatologique, ayant fait l'objet d'un certain consensus et si possible validés. La sélection des patients témoins s'est faite à l'aide d'une étude de dossier afin de déterminer si les patients satisfaisaient aux critères diagnostiques et aussi pour effectuer une collecte de données démographiques.

Les catégories de stratification qui ont été retenues sont les suivantes: Individus normaux sains tel que défini par l'OMS (Hogart, 1977), le lupus érythémateux disséminé (Tan et Cohen, 1982), les spondylarthropathies séronégatives (Dougados et al.1991) incluant; l'arthrite psoriasique, la spondylite ankylosante, l'arthrite réactive ou indéterminée, le syndrome de Reiter; les arthrites infectieuses (bactériennes) (Goldenberg, 1989), la sarcoïdose (Spielberg et al.1969), la goutte (Wallace et al.1977), l'ostéoarthrose (Altman et al. 1986; Altman et al. 1991), la sclérose systémique (Masi et al. 1980), le syndrome de Sjögren (Vitali et al. 1993), la maladie mixte du tissu conjonctif (MMTC) (Sharp et al. 1972).

Vous trouverez en annexe B un exemple de feuille de collecte des données utilisée lors de la revue de dossier des patients témoins.

2.1.3 Inclusion:

Patients avec PR:

- 1- patients des deux sexes;
- 2- de 18 ans et plus;
- 3- satisfaisant aux critères de la PR du CAR;
- 4- ayant été vu à la clinique externe de rhumatologie du CHUS pendant la période de l'étude;
- 5- ayant consenti à un prélèvement sanguin pour étude sérologique durant la période de l'étude.

Groupe témoin:

- 1- patients des deux sexes;
- 2- de 18 ans et plus;
- 3- ayant été référé en clinique externe de rhumatologie du CHUS pour pathologie rhumatismales autre qu'une PR;
- 4- satisfaisant aux critères du CAR ou à d'autres critères diagnostics obtenus par consensus pour les différentes pathologies rhumatismales;
- 5- les témoins sains devaient satisfaire à la définition de l'organisation mondiale de la santé (OMS);
- 6- ayant consenti à un prélèvement sanguin pour conservation dans la banque de sérum à des fins de recherche. Ces prélèvements étaient effectués dans le cadre d'une pratique normale de rhumatologie.

2.1.4 Exclusion:

Ont été exclus:

- 1- les patients ne satisfaisant pas aux critères d'inclusion;
- 2- les prélèvements pour sérologie effectués de façon non contemporaine à l'étude dans le cas du groupe PR ou de façon antérieure dans le cas du groupe témoin, chez un même patient consentant;
- 3- les patients PR n'ayant pas consenti à participer à l'étude initiale (Ro/anti-Ro) ou les patients témoins n'ayant pas eu de prélèvements sanguins à des fins de conservation dans la banque de sérums.

2.1.5 Éthique:

Le protocole de l'étude a fait l'objet d'une demande au comité d'éthique de la faculté de Médecine de l'Université de Sherbrooke et a été approuvé. L'étude initiale devait contenir un groupe de patients témoins souffrant de divers types de maladies auto-immunes non rhumatismales. Ce groupe devait être constitué de novo avec l'aide de la collaboration de médecins des autres départements universitaires. Pour des raisons de logistique et aussi à cause des difficultés de standardisation de la méthode d'immunoblot, il m'a été impossible d'assembler un tel groupe témoin. Vous trouverez à l'annexe C, le formulaire de consentement qui a été accepté par le comité d'éthique.

2.1.6 Taille de l'échantillon:

Le type de résultats qui ont été obtenus dans cette étude étaient sous forme dichotomique (anti-Ta: positif, négatif). Une mesure de la taille de l'échantillon a pu être effectuée à l'aide d'une formule tenant compte des proportions de test positif dans les deux groupes de patients (PR et témoins) (Fleiss et al. 1980). Les données préliminaires disponibles nous donnaient une fréquence d'anti-Ta d'approximativement 13% chez les patients rhumatoïdes ($P_1 = 13\%$) par rapport à une fréquence nulle chez les patients non rhumatoïdes ($P_2 = 0\%$).

Pour une erreur $\alpha=0.05$ et $\beta=0.10$, le nombre (n) de patient obtenu était de $n = 90$ patients par groupe.

La formule utilisée pour le calcul du nombre de patients nécessaires est la suivante d'après Fleiss et al. 1980:

Formule no. 1:

$$N = \frac{[Z_{\alpha} \sqrt{P(1-P) (1/q_1 + 1/q_2)} + Z_{\beta} \sqrt{P_1(1-P_1) (1/q_1) + P_2(1-P_2) (1/q_2)}]^2}{(P_1 - P_2)^2}$$

Où q_1 = la proportion des sujets du groupe PR

q_2 = la proportion des sujets du groupe témoin

N = le nombre total de sujets nécessaires

$P = q_1P_1 + q_2P_2$

2.1.7 Indicateurs de mauvais pronostic:

Les indicateurs de pronostic retenus proviennent de données recueillies lors de l'étude sur le système Ro.

A cause du devis rétrospectif de cette étude, les données recueillies comportaient de sérieuses limitations quant à l'évaluation pronostique des patients. Une étude prospective aurait été préférable. Elle aurait permis de suivre à l'aide de mesures répétées, les niveaux de certains indicateurs de pronostic, comme par exemple, le FR ou la VS. Ce serait la persistance dans le temps de l'élévation du titre de FR (Erhardt et al. 1989; Rasker et Cosh, 1989) ou de la VS (Fleming et al. 1976; Kaarala, 1985) qui aurait une valeur de mauvais pronostic. Or les données de laboratoire recueillies, sont ponctuelles, ainsi ne représentent-elles qu'une image statique de la sévérité de la PR des patients étudiés. Certains tests cliniques comme le décompte articulaire et des données de laboratoire comme la VS n'ont pas été effectués et/ou recueillies et n'étaient donc pas disponibles. Compte tenu de ces limitations, les données démographiques, cliniques et de laboratoire suivantes ont été retenues:

1. l'âge au moment du diagnostic
2. le sexe
3. la durée de la maladie (en mois).

Les données cliniques retenues sont les suivantes:

1. Le grade fonctionnel de Steinbröcker (Steinbröcker et al. 1949)
2. le grade radiologique (Kellgren et Bier, 1956)
3. la présence de manifestations extra-articulaires soit: nodosités rhumatoïdes, de purpura et/ou de vascularite rhumatoïde avec ulcérations cutanées, splénomégalie et/ou une hépatomégalie, atteinte pulmonaire rhumatoïde avec râles pulmonaires et/ou anomalies de type restrictives au tests de fonctions respiratoires, neuropathie vasculitique confirmée par étude de conduction nerveuse. Ces manifestations étaient telles que définies par le dictionnaire des termes rhumatismaux du CAR (ARA Glossary Committee 1982; 1988)
4. L'utilisation de prednisone (Mittchell et al. 1986).

Les facteurs pronostics de laboratoire retenus sont les suivants:

1. La présence de FR de type IgM à >80 Unités Internationales (UI), tel que mesuré par le test de fixation au latex en utilisant des serums de référence du Center for Disease Control (Atlanta, GA)
2. la présence d'anticorps anti-nucléaires à titre significatif (> 1:80) à l'immunofluorescence indirecte sur cellules Hep 2 (Kallestsad, Austin, TX)
3. la présence de protéinurie à l'analyse d'urine (≥1+ à l'analyse semi-quantitative)

4. une leucopénie à $< 4 \times 10^9$ cellules/l à la formule sanguine complète non expliquée par la médication antirhumatismale
5. la présence d'hypocomplémentémie, soit un C3 < 94 mg/dl (N= 94 à 214 mg/dl) et/ou un C4 < 16 mg/dl (N= 16 à 50 mg/dl) mesurés par néphélobimétrie
6. la présence d'une cryoglobulinémie ≥ 40 μ g/ml tel que déterminée par dosage colorimétrique et mesuré au spectrophotomètre à 280 nm
7. la présence d'anticorps anti-Ro détectés par technique de double immunodiffusion en gel d'agarose (Boire et Ménard, 1988).

Tous ces indicateurs pronostics, pris individuellement, ont en soit une valeur limitée. Il n'existe pas présentement d'index de sévérité du pronostic fonctionnel ou de survie pour la PR. La plupart des index disponibles, servent à mesurer l'activité actuelle de la PR (Boers et Tugwell, 1993).

Les données sélectionnées permettent surtout de déterminer le pronostic de survie des patients étudiés soit, la sévérité de la morbidité extra-articulaire. Ce choix a d'abord été fait parce que d'une part le système Ta/anti-Ta semblait être, dans les études préliminaires, un marqueur de sévérité de la morbidité extra-articulaire et ensuite, à cause de l'excellente documentation de ces mêmes manifestations dans les données disponibles de l'étude du système anti-Ro.

2.1.8 Manifestations cibles:

Les patients PR ont été considérés comme ayant une maladie plus sévère lorsqu'ils présentaient:

1. Une classe fonctionnelle supérieure à II sur une échelle de I à IV.
2. Un grade radiologique > 2 sur une échelle de (0 à 4)
3. La présence d'au moins une des manifestations extra-articulaire mentionnée plus haut.

2.2 Méthodes de laboratoire:

Les sections suivantes sont destinées à la description de l'outil de mesure principal, l'immunoblot. Cette technique sert à l'identification d'anticorps anti-Ta dirigés contre des antigènes Ta qui sont accolés à la surface d'une membrane de nitrocellulose. Les sections intitulées "Culture cellulaire", "Préparation d'extraits cellulaires et tissulaires", ont trait à la préparation d'extraits contenant la protéine Ta. Ces extraits contiennent une grande variété de protéines. Afin d'obtenir une réponse anticorpsantigène plus spécifique, sans interférences avec d'autres protéines, il est nécessaire de purifier ces extraits. Aussi la semi-purification à l'aide de résine échangeuse d'ion permet-elle d'éliminer une partie des protéines pouvant interférer avec cette réaction. L'électrophorèse des protéines permet de séparer les protéines en les étalant à la surface de la nitrocellulose selon leurs masses moléculaires et leur charges. Après ce travail de préparation des membranes de nitrocellulose, l'immunoblot, soit le test de dépistage proprement dit, est effectué. La section sur l'immunoprécipitation, décrit une autre technique d'identification de systèmes auto-immuns, basée sur la formation de complexes immuns dans des conditions moins dénaturantes que l'immunoblot. Cette méthode, dont la fiabilité pourrait faire l'objet d'une étude distincte a servi à corroborer les résultats obtenus par IB.

2.2.1 Cultures cellulaires:

Des cellules humaines de type HeLa (American type culture collection, Rockville, MD) ont été cultivées en suspension dans un milieu de culture RPMI 1640 (Sigma Chem. co., St-Louis MO) contenant 10% de sérum foetal de veau, à 37°C dans une atmosphère contenant 5% de CO₂. Aux cultures avaient été ajoutés des antibiotiques, soit 60 µg de pénicilline G sodique par ml et 100 µg de streptomycine par ml de milieu de culture (Boire et Craft, 1989).

2.2.2 Préparations d'extraits cellulaires et tissulaires:

1- Extraits de cellules HeLa:

Les cellules ont été récoltées par centrifugation à faible vitesse (2000 rpm pendant 5 min.). Après deux lavages au tampon PBS, (10 mM de tampon phosphate [7.5], 150 mM NaCl) elles ont été lysées, par sonication sur glace à 3 reprises de 20 secondes chacune, dans un tampon NET-2 (50 mM Tris-Cl [7.5], 150 mM NaCl, 0.05% Nonidet P-40). Une centrifugation à 13 000 g pendant 25 minutes, à 4°C, a été ensuite effectuée pour éliminer les débris cellulaires. Le surnageant était ensuite utilisé immédiatement, comme source d'antigène Ta.

2- Extraits de placenta semi-purifiés à l'aide de résine échangeuse d'ions (DE 52):

Les placentas frais provenant de la salle d'accouchement du CHUS ont été obtenus dans le cadre d'une étude sur le système auto-antigénique Sa/anti-Sa. Des extraits semi-purifiés sur DE 52, (Whatman, Fairfield, NJ) contenant l'antigène Ta ont été gracieusement offerts par N. Després, étudiant au PhD. Ces extraits, qui avaient fait l'objet d'études de chromatographie ne contenaient pas de protéine Sa et avaient été conservés à - 20°C.

La résine échangeuse d'anion le DE 52, a été équilibrée dans le tampon d'homogénéisation (50 mM Tris-Cl, 120 mM NaCl, 0.02% NaN₃ [7.4], 1.5 mM de Fluorure de Phénylméthylsulfonyl (PMSF; Sigma Chemicals Co, St-Louis, MO), 1.0 mM Dithiothréitol (Dtt)) à raison de 1 gramme de résine sèche par gramme de placenta selon les indications du fournisseur. Cent grammes de placenta ont d'abord été découpés, sur glace, en petit morceaux de quelques millimètres de diamètre. Le tissu a été homogénéisé à l'aide d'un mixeur, pendant 10 minutes, à 4°C dans quatre ml de tampon d'homogénéisation par gramme de placenta. Après avoir laissé reposer pendant 30 minutes avec agitations occasionnelles, l'homogénat a été centrifugé à 1,600 g, à 4°C, pendant une heure. Le surnageant a été recueilli et mélangé avec la résine préalablement équilibrée, dans un rapport de 1 gramme de résine sèche par gramme de tissu, à 4°C, pendant une heure, avec agitations occasionnelles du mélange.

Ce mélange a ensuite été filtré sur Buchner en utilisant un papier filtre Reeve angle 202 de 12.5 cm de diamètre. La résine chargée d'antigènes a alors été lavée à l'aide de tampon d'homogénéisation jusqu'à l'obtention d'un filtrat clair. Ceci a été mesuré par densitométrie optique à une longueur d'onde de 280 nm. La D.O. du filtrat était ≤ 0.02 par rapport au tampon d'homogénéisation. La résine chargée a ensuite été recueillie puis mélangée au tampon d'élution (50 mM Tris-HCl, 200 mM NaCl, 0.02% NaN₃, [7.4], 1.5 mM PMSF, 1.0 mM Dtt) dans une proportion de 2 volumes de tampon par volume de résine. Ce mélange a été effectué pendant une heure, à 4°C avec agitation occasionnelle. Le mélange a été filtré sur Buchner et lavé à deux reprises à l'aide de 100 ml de tampon d'élution. Le filtrat initial et les filtrats de lavage ont été conservés et combinés. Ils ont été dialysés contre de l'eau bidistillée contenant 0.15 mM de PMSF à 4°C pendant 48 heures. Le dialysat obtenu a été lyophilisé et conservé à moins 20°C.

2.2.3 Electrophorèse en gel de polyacrylamide:

Les électrophorèses en gel de polyacrylamide ont été effectués à l'aide du système Mini-protean II cell (Bio-Rad, Richmond, CA). Il s'agit d'un système d'électrophorèse effectuée verticalement entre deux plaques de verre. Ces dernières avaient été préalablement badigeonnées de silicone afin de diminuer l'adhérence de l'acrylamide au verre et de faciliter ainsi la manipulation des gels. Les gels utilisés mesuraient 1 mm d'épaisseur. Leur longueur était de sept cm, soit 6 cm de gel séparateur pour un cm de gel concentrateur. La concentration de polyacrylamide du gel séparateur était de 6% (acrylamide:bis acrylamide, 98:2) en présence de dodecyl-sulphate (SDS) tel que décrit par Laemmli (Laemmli, 1970).

Dix mg d'extraits lyophilisés de placenta semi-purifiés ont été resuspendus dans un ml de tampon de dénaturation (2% SDS, 10% glycérol, 62.5 mM Tris-Cl, [6.8] et 5% 2-mercaptoéthanol). Les extraits ont été colorés au bromophénol bleu chauffés à 100°C pendant 3 minutes. Les protéines (150 μ l d'extraits par gel) étaient séparées par électrophorèse à voltage constant, 150 volts, pendant approximativement une heure trente, soit le temps nécessaire pour une migration complète du bleu de bromophénol sur toute la distance du gel séparateur. Le tampon d'électrophorèse était constitué de 25 mM de Tris-Cl, 192 mM glycine, [8.3], 0.1% SDS. Des marqueurs de masse moléculaire biotinylisés (Bio-Rad, Richmond, CA) contenant de la myosine

(200 kD) et de la β -Galactosidase (116,250 D) on été utilisés lors des électrophorèses. Cette même technique a été appliquée sur des extraits de cellules HeLa. Après préparation des cellules HeLa tel que mentionné plus haut, les extraits cellulaires totaux ont été mélangés au tampon dénaturant, bouillis puis déposés sur le gel pour l'électrophorèse.

2.2.4 Électrotransfert:

Les protéines séparées dans le gel de polyacrylamide ont été transférés sur une membrane de nitrocellulose selon la méthode de Towbin et al (1979). Le tampon de transfert utilisé contenait 25 mM de Tris-Cl, 192 mM de glycine, [8.3] et 20% de méthanol. Le transfert des protéines sur la membrane de nitrocellulose a été effectué à voltage constant, soit 100 volts pendant une heure. Des colorations au nitrate d'argent et au bleu de coomassie ont été effectuées de façon sporadique pendant la période de standardisation de la méthode pour vérifier la qualité du transfert des protéines.

2.2.5 Immunoblot:

Un blocage des surfaces de nitrocellulose ne contenant pas de protéines a été effectué à l'aide d'un tampon de blocage (10 mM Tris-Cl, 150 mM NaCl, [7.4]) contenant 4% de gélatine de poisson, pendant toute la nuit, sous agitation mécanique, à 4°C ou pendant 2 heures, sous agitation, à 37°C. L'incubation des sérums des patients sur les membranes de nitrocelluloses a été effectuée dans un appareil Miniblotter (Immunetics, Cambridge, MA). Il permet d'incuber jusqu'à 28 sérums différents dans autant de puits indépendants, sur une feuille de nitrocellulose de 7 par 9 cm. Chacun des puits peut recevoir un volume 40 μ l d'échantillon. Les sérums à tester ont été dilués, au moment du dépistage à 1:40 dans un tampon à échantillon (150 mM Tris-Cl, [7.4], 0.1% Tween 20, 1% gélatine de poisson) et incubés pendant une heure, à température de la pièce. Des dilutions plus importantes ont été effectuées de façon semi-quantitative sur les sérums positifs au dépistage.

Après trois lavages avec un tampon de lavage identique au tampon à échantillon, les membranes de nitrocellulose ont été incubées avec des anticorps de chèvre biotinylisés (Jackson ImmunoResearch Laboratoires Inc., West Grove, PA), dirigés contre la portion F(ab')₂ des IgG ou contre la portion Fc des IgM humains. Ces anticorps avaient été préalablement dilués à 1:4000 dans le tampon à échantillon. Ils ont été incubés sur

les membranes de nitrocellulose pendant une heure, à température de la pièce.

Après trois lavages avec le tampon de lavage, les membranes de nitrocellulose ont été incubées avec une enzyme, la peroxydase, couplée à la streptavidine (Jackson ImmunoResearch Inc. West Grove, PA) et diluée dans le tampon à échantillon 1:4000. La streptavidine est une protéine qui se lie à la biotine permettant ainsi de lier l'enzyme couplée aux anticorps biotinilisés.

Après 30 minutes d'incubation à température de la pièce, les nitrocelluloses ont été lavées avec un tampon 10 mM Tris-Cl, 1.0 M NaCl, [7.4], 0.1% Tween 20 à trois reprises, suivi de 2 lavages avec le tampon 10 mM Tris-Cl, 150 mM NaCl, [7.4].

Le développement de la coloration a été obtenu avec 30 mg de 4-chloro-1-naphtol dissous dans 10 ml de méthanol, mélangé à 20 μ l de peroxyde d'hydrogène 30% dans 40 ml de tampon 10 mM Tris-Cl, 150 mM NaCl, [7.4]. La réaction enzymatique a été stoppée après quelques minutes à l'aide d'eau bidistillée.

2.2.6 Interprétation des immunoblots:

Les résultats de l'immunoblot ont été interprétés par un observateur indépendant, à l'aveugle, c'est-à-dire que l'observateur n'était pas au courant du diagnostic des patients testés.

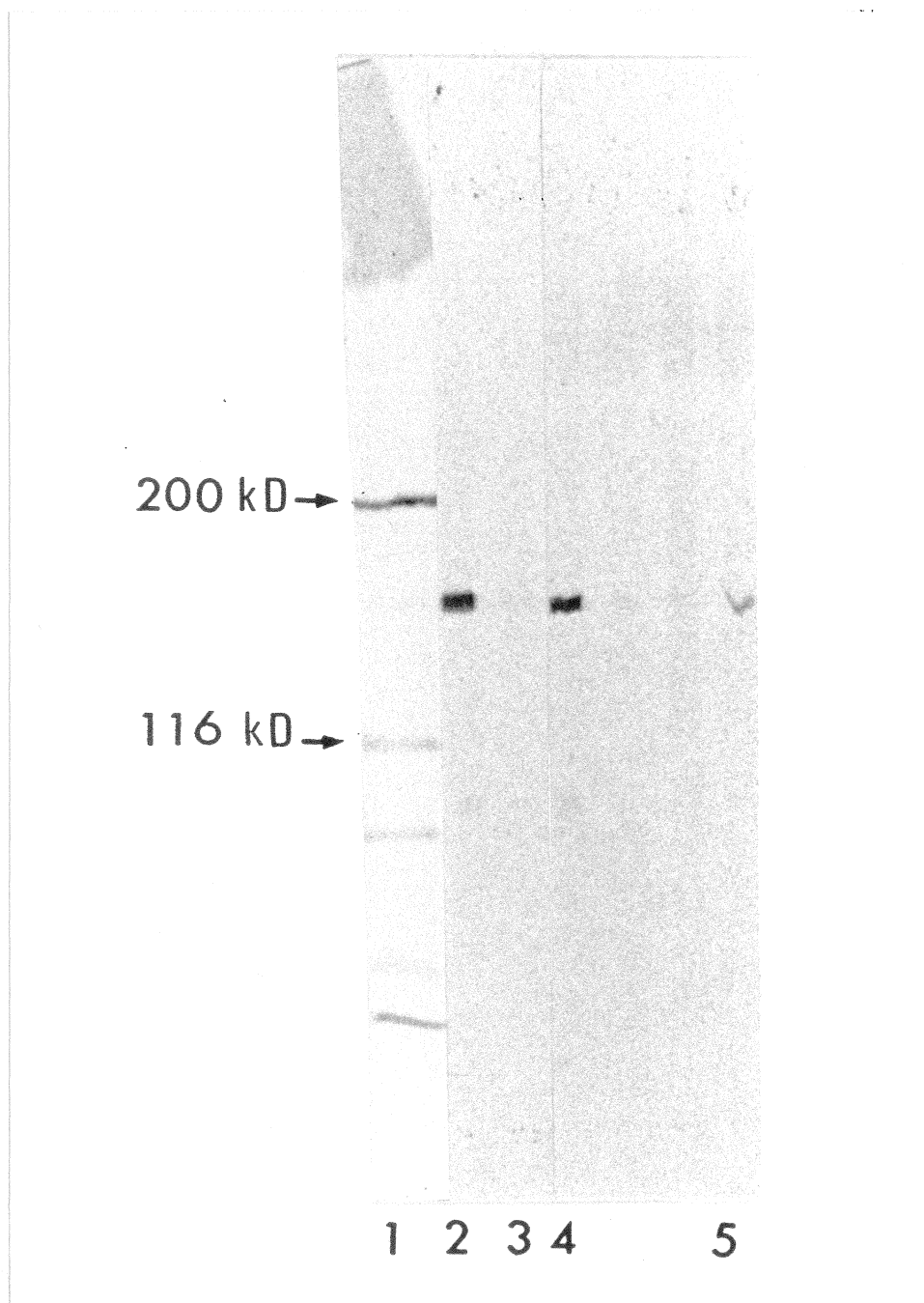
Cette mesure a été prise dans le but de diminuer les biais de lecture qui auraient pu être introduits si le manipulateur des sérums avait été aussi celui qui interprétait les immunoblots.

Il y avait trois résultats possibles à la lecture du test (figure 1): 1. Un résultat positif était caractérisé par une ligne (ou parfois deux lignes) aux marges nettes située(s) à la même hauteur et d'aspect semblable à la ligne du contrôle positif et cela en présence de témoins négatifs adéquats. 2. Un résultat négatif était caractérisé par l'absence de toute coloration à la hauteur du témoin positif et cela en présence de témoins adéquats. 3. Un résultat indéterminé, était caractérisé par la présence de coloration diffuse au même niveau que le témoin positif. Les résultats indéterminés ont été retestés à diverses dilutions (1:20, 1:40, 1:80, 1:100) afin de déterminer leur persistance.

FIGURE 1**Interprétation des résultats d'immunoblot standardisé
pour le système auto-antigénique ta/anti-ta.**

- Piste 1: Marqueurs de masse moléculaire.
- Piste 2: Révélation effectuée avec le dialysat de la plasmaphérèse de la patiente Ta porteuse du système Ta/anti-ta et servant de témoin positif à une dilution de 1:100.
- Piste 3: Révélation négative effectuée à l'aide d'un sérum d'individu sain (dilution 1:40).
- Piste 4: Exemple d'un résultat de révélation positif lors de l'évaluation d'un sérum de patient PR porteur d'anticorps anti-Ta (dilution 1:40)
- Piste 5: Exemple de résultat indéterminé chez un patient PR (dilution 1:40).

Illustration de la figure 1



Une grande partie du travail de standardisation de la méthode d'immunoblot a consisté à trouver les conditions nécessaires pour minimiser le nombre de résultats indéterminés.

Chacune des membranes de nitrocellulose contenait 3 pistes de témoin positif, soit une dilution 1:100 de liquide de plasmaphérèse de madame Ta, de même que quatre pistes de témoins négatifs soit deux pistes contenant le sérum d'un donneur sain, dilué à 1:40 et deux pistes contenant du tampon de lavage. Les membranes de nitrocellulose étaient détruites lorsque l'un des contrôles positif ou négatif était inadéquat.

2.3 Fiabilité de l'immunoblot:

Pour standardiser et évaluer la fiabilité de l'immunoblot, des tests de fiabilité inter-observateurs ont été pratiqués. La fiabilité intra-observateur (constance de lecture chez un même individu), de même que la reproductibilité du test (sa constance lorsque l'on teste de nouveau les mêmes sérums).

Ces tests ont été effectués à l'aide de 10 sérums positifs et 11 sérums négatifs choisis de façon arbitraire et testés sur une même membrane de nitrocellulose. Les sérums ont été testés une première fois et ont fait l'objet de lecture indépendante par deux observateurs. Ils ont été testés de nouveau dans un ordre différent et lus une seconde fois par les mêmes observateurs, une semaine après la première lecture, de façon indépendante et dans l'ignorance du diagnostic ou de l'identité

des patients. Après trois semaines ces mêmes membranes de nitrocelluloses qui avaient été conservées à la noirceur ont été relues par l'un des observateurs indépendants.

Le Kappa de Cohen, un coefficient de corrélation qui permet de mesurer l'accord lorsque une observation se présente sous forme de score unique par catégories (positif, négatif, indéterminé) a été utilisé (Fleiss, 1981). Ce coefficient permet de mesurer l'accord dans la lecture des immunoblots en tenant compte du hasard, et cela s'applique aussi bien pour des mesures inter que intra-observateur.

La formule du coefficient Kappa est la suivante:

Formule no.2

$$\kappa = \frac{P_o - P_c}{1 - P_c}$$

- P_o correspond à la proportion globale observée, elle reflète le degré de concordance entre les lectures des deux observateurs.

- P_c correspond à la proportion globale d'accord par chance, c'est-à-dire les accords engendrés par le pur hasard.

Les données obtenues peuvent être colligées dans un tableau de contingences appelé aussi matrice d'accord. (c.f. tableau 1)

On remarquera que dans ce tableau la diagonale p_{ii} , p_{jj} , etc. représentent les observations où l'accord entre les deux observateurs est parfait.

Le kappa peut varier de -1 à 1: -1 indique l'absence complet d'accord, 0 indique une concordance uniquement attribuable au hasard et 1 indique une concordance parfaite dans la lecture des deux observateurs. L'objectif visé par la standardisation de l'immunoblot était d'obtenir un kappa le plus près possible de 1.

Il est possible de calculer un écart type pour la valeur kappa à partir de l'équation suivante: (Fleiss, 1981)

Formule no.3

$$s.e(\kappa) = \frac{\sqrt{A+B-C}}{(1-p_c)\sqrt{n}}$$

TABLEAU 1

TABLEAU DE CONTINGENCE D'ACCORD
ENTRE DEUX OBSERVATEURS

		OBSERVATEUR 2				
		<i>i</i>	<i>j</i>	...	<i>k</i>	total
OBSERVATEUR 1	<i>i</i>	p_{ii}	p_{ij}	...	p_{ik}	$p_{i.}$
	<i>j</i>	p_{ji}	p_{jj}	...	p_{jk}	$p_{j.}$

	<i>k</i>	p_{ki}	p_{kj}	...	p_{kk}	$p_{k.}$
		$p_{.i}$	$p_{.j}$...	$p_{.k}$	1

2.4 Immunoprécipitation:

La technique d'immunoprécipitation (IP) qui a été utilisée était fortement inspirée de la technique utilisée par Gilles Boire pour son étude sur le Ro (Boire et Craft, 1989) avec plusieurs modifications. La principale modification était qu'elle n'utilisait pas de substrat marqué radioactivement. La révélation des résultats s'est faite à l'aide de l'IB.

Quinze μl de sérum de patient ont été incubés, sous agitation, pendant toute la nuit à 4°C avec 3 mg de billes de sépharose recouvertes de protéine A (Pharmacia Inc., Piscataway, NJ) dans 500 ml de tampon d'IP (20 mM Tris-Cl, 0.5 M NaCl, [7.5], 1% Nonidet P-40). Les billes désormais recouvertes d'Ig, ont été lavées à 3 reprises avec 500 μl du tampon d'IP puis à deux reprises avec le même volume de tampon d'équilibration (20 mM Tris-Cl, 150 mM NaCl, [7.5], 0.5% Tween 20).

Des extraits totaux de cellules HeLa, ont alors été préparés tel que décrit plus haut, à raison de 100×10^6 cellules dans un ml de tampon NET 2 (50 Tris-Cl, 150 mM NaCl, [7.5], 0.05% Nonidet P-40). Cent μl de ces extraits ont été ajoutés aux billes de protéine A resuspendues dans le tampon d'équilibration et incubés avec agitation, pendant 3 heures, à 4°C produisant ainsi des complexes immuns Ta/anti-Ta.

Six lavages dans un tampon 20 mM Tris-Cl, 150 mM NaCl, [7.5], 0.5% Tween 20 ont été par la suite effectués. Après le dernier lavage, les billes ont été resuspendues dans 50 μl de

tampon de dénaturation (125 mM Tris-Cl, 20% glycérol, 4% SDS, 10% β -mercaptoéthanol) et ont subi une ébullition pendant 3 minutes.

Après centrifugation à 13 000 RPM pendant 10 secondes, 25 μ l de surnageant, contenant désormais des antigènes et des anticorps libres en solution, ont subi une électrophorèse en gel de polyacrilamide tel que décrite plus haut. Les protéines séparées dans le gel ont été électrotransférées sur une membrane de nitrocellulose. La détection de la protéine Ta immunoprécipitée s'est faite par technique d'immunoblot en utilisant les contrôles positif et négatif mentionnés plus haut, soit une dilution 1:100 de liquide de plasmaphérèse de la patiente Ta comme contrôle positif et une dilution 1:40 de sérum provenant d'un individu normal.

2.5 Analyses statistiques:

L'analyse des données s'est faite à l'aide du test de T de Student corrigé pour les variables gaussiennes et du test de Chi carré, avec la correction de Yates, pour les variables nominales et catégorielles . Le test exact de Fisher a été utilisé lorsque la fréquence attendue dans l'une des cellules du tableau de contingence était inférieure à 5. Les données manquantes ont été exclues de la plupart des calculs. Dans certaines circonstances ces données ont été incluses de façon

à reproduire le scénario le moins favorable à l'hypothèse de travail.

Les logiciels statistiques utilisés sont; Epi Info version 5.0 (Dean et al.1988) et le Primer of Biostatistics (Glantz, 1987) utilisé sur micro-ordinateur PC 386.

La sensibilité et la spécificité de l'IB pour la détection des anticorps anti-Ta, ont été déterminés à l'aide des formules classiques à partir d'un tableau de contingence (2 X 2). Les vrais positifs (VP) étaient les patients PR anti-Ta+ et les faux positifs (FP) les patients témoins avec un test positif. Les vrais négatifs (VN) étaient les témoins avec un test négatif et les faux négatifs (FN), les patients PR anti-Ta (-). Les formules utilisées étaient donc:

$$\text{sensibilité} = \text{VP} / (\text{VN} + \text{FP})$$

$$\text{spécificité} = \text{VN} / (\text{VN} + \text{FP})$$

3. RÉSULTATS:

3.1 Fiabilité de l'immunoblot:

L'évaluation de la fiabilité inter-observateur, la reproductibilité du test de même que la reproductibilité de lecture (fiabilité intra-observateur) ont été étudiées pour les trois catégories de lecture soit un résultat positif, négatif et indéterminé. Les résultats obtenus sont illustrés dans les tableau 2A pour la fiabilité inter-observateur, le tableau 3A pour la reproductibilité du test et le tableau 4A pour la reproductibilité de lecture. Pour la fiabilité inter-observateur et la reproductibilité du test, on remarquera qu'il était impossible de calculer le coefficient de corrélation à l'aide de la formule no. 2 donnée plus haut et cela à cause de la présence de marginales égales à 0 dans les tableaux de contingence (Feinstein et Cicchetti, 1990).

Lors des tests de standardisation, dans la plupart des cas les tests dits "indéterminés" étaient fréquemment relus lors d'une seconde séance de lecture comme négatifs. On remarquera que parmi les trois tableaux de contingence, un seul cas de lecture indéterminé, au tableau 4A (reproductibilité) a fait l'objet d'une lecture positive lors de la seconde observation. En cours de standardisation nous avons remarqué que ces tests indéterminés, particulièrement chez les rhumatoïdes, se

négativement à titre plus élevé (1:80 et plus). Aussi n'y avait-il aucun résultat indéterminé dans le groupe de patients avec PR et seulement 9 patients du groupe témoin présentaient un résultat indéterminé. Pour toutes ces raisons, les résultats "indéterminés" furent considérés comme négatifs. Cette dichotomisation des résultats a permis de simplifier le calcul des coefficients de corrélation.

Ainsi, pour la fiabilité du test au niveau inter-observateurs, reproductibilité et intra-observateur, les différents tableaux de contingences 2 par 2 obtenus sont illustrés aux tableaux 2B, 3B et 4B respectivement.

Des corrélations parfaites ($\kappa = 1.0$) ont été obtenues au niveau inter et intra-observateur. L'évaluation de la reproductibilité du test (test retest) a donné un coefficient kappa égal à 0.904 ± 0.094 .

Une corrélation supérieure à 0.81 est considérée comme excellente (Landis et Koch, 1977).

3.2 Composition du groupe témoin:

L'échantillonnage aléatoire stratifié de la banque de sérum de l'UMR avait permis d'identifier 278 patients potentiellement admissibles comme patients témoins pour l'étude. Tous ces dossiers ont été révisés et du nombre initial seulement 127 patients (45.7%) ont été retenus. La cause principale de rejet était la non satisfaction des critères

d'inclusions dans 31.8% des cas et cela surtout par non satisfaction des critères diagnostiques des différentes maladies. Dans 29.1% des cas rejetés, le diagnostic indiqué sur la requête de demande d'évaluation sérologique était erroné. Ce phénomène est dû au fait que les diagnostics de travail indiqués sur les requêtes ne sont pas vérifiés lors de la rentrée des données dans l'ordinateur.

TABLEAU 2

FIABILITÉ INTER-OBSERVATEURS

A.

		OBSERVATEUR 2			
		TEST	+	-	IND.
OBSERVATEUR 1	+	20 (0.476)	0 (0)	0 (0)	20 (0.476)
	-	0 (0)	21 (0.5)	0 (0)	21 (0.5)
	IND.	0 (0)	1 (0.024)	0 (0)	1 (0.048)
		20 (0.476)	22 (0.523)	0 (0)	42 (1)

B.

		OBSERVATEUR 2		
		TEST	+	-
OBSERVATEUR 1	+	20 (0.476)	0 (0)	20 (0.476)
	-	0 (0)	22 (0.523)	22 (0.523)
		20 (0.476)	22 (0.523)	42 (1)

$$\kappa = 1.0$$

TABLEAU 3

REPRODUCTIBILITÉ DU TEST

A.

		OBSERVATEUR 2			
		TEST	+	-	IND.
OBSERVATEUR 1	+	9 (0.429)	0 (0)	1 (0.048)	10 (0.477)
	-	0 (0)	11 (0.523)	0 (0)	11 (0.523)
	IND.	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
		9 (0.429)	11 (0.523)	1 (0.048)	21 (1)

B.

		OBSERVATEUR 2		
		TEST	+	-
OBSERVATEUR 1	+	9 (0.429)	1 (0.048)	10 (0.477)
	-	0 (0)	11 (0.523)	11 (0.523)
		9 (0.429)	12 (0.571)	21 (1)

$$\kappa = 0.904 \pm 0.094$$

TABLEAU 4

FIABILITÉ INTRA-OBSERVATEUR

A.

		OBSERVATEUR 2			
		TEST	+	-	IND.
OBSERVATEUR 1	+	20 (0.476)	0 (0)	0 (0)	20 (0.476)
	-	0 (0)	19 (0.452)	1 (0.024)	20 (0.476)
	IND.	0 (0)	1 (0.024)	1 (0.024)	2 (0.048)
		20 (0.476)	20 (0.476)	2 (0.048)	42 (1)

B.

		OBSERVATEUR 2		
		TEST	+	-
OBSERVATEUR 1	+	20 (0.476)	0 (0)	20 (0.476)
	-	0 (0)	22 (0.523)	22 (0.523)
		20 (0.476)	22 (0.523)	42 (1)

$$\kappa = 1.0$$

TABLEAU 5

CARACTÉRISTIQUES DES PATIENTS
DU GROUPE TÉMOIN

	INCLUS (n=115) (%)	EXCLUS (n=12) (%)
Age au diagnostic (années)	39.79 ± 18.04	39.33 ± 13.28
Sexe féminin	77 (67.0)	5 (41.7)
Sexe masculin	38 (33.0)	7 (58.7)
Durée de la maladie (mois)	62.7 ± 75.34	49.50 ± 76.26
DIAGNOSTICS		
1. LED	31 (27.0)	7 (8.3)
2. APS	13 (11.3)	7 (8.3)
3. SA.	12 (10.4)	2 (16.7)
4. SS	9 (7.8)	1 (8.3)
5. OA	9 (7.8)	1 (8.3)
6. SSP	8 (7.0)	1 (8.3)
7. SARCOÏDOSE	8 (7.0)	2 (16.7)
8. INDIVIDUS NORMAUX	7 (6.1)	0 (0)
9. SPONDYL IND.	6 (5.2)	1 (8.3)
10. REITER	5 (4.3)	1 (8.3)
11. MMTC	4 (3.5)	0 (0)
12. GOUTTE	2 (1.7)	1 (8.3)
13. A. INF.	1 (0.9)	0 (0)

LÉGENDE

LED	Lupus érythémateux disséminé
APS	Arthrite psoriasique
SA	Spondylite ankylosante
SS	Syndrome de Sjögren
OA	Ostéoarthrose
SSP	Sclérose systémique progressive
MMTC	Maladie mixte du tissu conjonctif
Spondyl ind.	Spondylarthropathies indéterminées
A. inf.	Arthrite infectieuse (bactérienne)

Une documentation insuffisante des cas dans les dossiers a amené 19.9% des rejets. Un syndrome de chevauchement entre PR et une autre maladie rhumatismale se retrouvait dans 11.9% des rejets. Finalement les erreurs d'identification des patients comptaient pour 7.2% des causes de rejet.

Parmi les 127 patients témoins admissibles à l'étude, 12 (9.4%) ont dû être exclus de l'étude parce que leur sérum n'était plus disponible, perdu ou épuisé. Les caractéristiques cliniques des patients du groupe témoin sont détaillées au tableau 5.

Il n'y avait pas de différences significatives quant à l'âge moyen au moment du diagnostic, la distribution des genres, la durée moyenne de la maladie de même que la distribution des différents diagnostics retenus entre les patients du groupe témoin inclus et exclus.

3.3 Composition du groupe des patients rhumatoïdes:

Des 303 patients potentiellement admissible pour l'étude 26 (8.6%) ont été exclus. Les causes d'exclusion sont les suivantes: 2 patients ont refusé de participer à l'étude initiale sur l'anti- Ro. Trois patients n'ont pas eu de prélèvement au moment de leur unique visite. Vingt patients n'ont simplement pas été sollicités au moment de l'étude sur l'anti-Ro. Finalement un sérum n'était plus disponible dans la banque de sérum.

Les caractéristiques épidémiologiques des patients rhumatoïdes sont illustrées au tableau 6. Il n'y avait pas de différence statistiquement significative entre les groupes de patients rhumatoïdes inclus et exclus de l'étude pour ce qui est de l'âge au moment du diagnostic, la distribution des sexes, la durée moyenne de la maladie au moment du prélèvement sanguin, le grade fonctionnel moyen, le grade radiologique moyen, le nombre moyen de manifestations extra-articulaires de même qu'au niveau de la sérologie (FR et ANA).

A titre comparatif, des données obtenues lors d'enquêtes épidémiologiques sur la PR sont incluses. Ces données nous permettent de constater que le groupe PR étudié ne se distingue pas pour les variables mentionnées, par rapport à d'autres populations de rhumatoïdes étudiées en Amérique du Nord (Linos et al.1980). Nous retrouvons aussi dans ce tableau la fréquence

du FR rapportée chez les patients PR (Carson, 1989; Laurence, 1977) de même que celle des ANA retrouvés à titre significatif chez près de 35% des patients PR (Garcia-de la Torre et Miranda-Mendez, 1982). On remarquera les similitudes entre les fréquences de tests sérologiques positifs observés dans notre cohorte par rapport à d'autres populations de patients PR.

TABLEAU 6

CARATÉRISTIQUES DES PATIENTS RHUMATOIDES

	INCLUS (n=277) (%)	EXCLUS (n=26) (%)	LITTE- -RA- TURE (%)
Age au diagnos- tic (années)	48.19 ± 12.99	44.12 ± 15.49	40-60
Sexe féminin	179 (64.6)	18 (69.2)	66-75
Sexe masculin	98 (35.4)	8 (30.8)	---
Durée de la ma- ladie (mois)	107.14 ± 102.69	133.16 ± 122.57	---
Grade fonction- nel moyen (I à IV)	1.89 ± 0.76	---	---
Grade radiolo- gique moyen (0 à 4)	2.35 ± 1.15	2.26 ± 1.29	---
Nombre moyen de manifestations extra-art.	0.64 ± 0.78	---	---
FR ≥ 63	180/277 (65.0)	14/22 (63.6)	70-75
ANA ≥ 1/80	121/277 (43.7)	7/15 (46.6)	35

3.4 Sensibilité et spécificité de l'immunoblot pour la détection du système Ta/anti-Ta pour la PR:

La sensibilité et la spécificité de l'immunoblot dans la détection des anticorps anti-Ta de type IgG est illustrée dans le tableau 7.

On remarquera d'abord la très faible sensibilité du test pour la PR avec des résultats variant de 1.44 à 0.36% selon le titre de dilution des sérums utilisés pour le dépistage.

Le dépistage à l'aide des anticorps anti-IgM a été effectué sur 82 des patients avec PR. Il n'a pas permis d'ajouter au patients déjà dépistés en IgG, de nouveaux patients anti-Ta anti-IgM. Compte tenu de ces résultats, il a été décidé de ne pas poursuivre le dépistage à l'aide des anticorps anti-IgM. La spécificité du test anti-Ta (IgG) était par contre excellente variant de 86.9% à 100% et cela de façon proportionnelle aux titres de dilution des sérums utilisés au dépistage. La figure 2 illustre la courbe de la caractéristique opérationnelle du résultat (COR) obtenue. Cette courbe permet d'exprimer de façon graphique la relation entre les résultats vraiment positifs (la sensibilité) et les résultats faussement positifs (la spécificité) dans les différentes situations dans lesquelles on fait varier les critères de positivité d'une épreuve diagnostique (Jenicek et Cléroux, 1985). La courbe COR a permis d'établir que le niveau seuil pour la détection plus spécifique des autoanticorps Ta se situait à la dilution 1:80.

A ce niveau, seulement 3 des 277 patients rhumatoïdes présentaient un test de dépistage positif contre un seul patient du groupe témoin pour une sensibilité de 1.08% et une spécificité de 99.1%. La différence de fréquence de détection des anticorps anti-Ta entre les deux groupes n'était pas statistiquement significative. Les immunoblots des trois patients PR positifs sont montrés à la figure 3.

Les résultats de l'immunoblot ont été confirmés à l'aide de l'immunoprécipitation sur billes de protéine A sépharose effectuée avec les trois sérums positif tel qu'illustré à la figure 4.

Au titre de dépistage 1:40, une différence de fréquence statistiquement significative ($p < 0.001$) pouvait s'observer mais cela en faveur des patients du groupe témoins plutôt que du groupe PR diminuant ainsi la spécificité du test à 86.9%. Onze sur 15 patients témoins positifs souffraient de spondylarthropathies séronégatives. La diminution du nombre de patients témoins positifs de 15 à titre 1:40 à 1 seul cas positif à plus haut titre (1:80, 1:100) indique une plus grande fréquence de cas faussement positifs dans le groupe témoin au titre 1:40.

Le seul patient témoin positif à 1:80 l'était aussi au titre 1:100, tel qu'illustré à la figure 5. Il s'agit d'un cas de sarcoïdose pulmonaire référé en consultation pour "arthropathies".

On remarquera sur cette figure que la ligne de détection semblait un peu plus haute par rapport au contrôle positif. Ceci

suggère qu'il ne s'agit pas de l'anticorps anti-Ta. De plus immunoprécipitation effectuée à l'aide de ce sérum confirme l'absence d'anticorps anti-Ta chez ce patient, tel qu'illustré à la figure 6.

TABLEAU 7

SENSIBILITÉ ET SPÉCIFICITÉ DE L'IMMUNOBLOT
DANS LA DÉTECTION DES ANTI-Ta

Titre des Anti-Ta	Fréquences de détection		Sensibilité (%)	Spécificité (%)
	Pts PR (n=277)	Pts témoins (n=115)		
≥ 1:40	4*	15	1.44	86.9
≥ 1:80	3	1	1.08	99.1
≥ 1:100	3	1	1.08	99.1
≥ 1:1000	2	0	0.72	100
≥ 1:2500	2	0	0.72	100
≥ 1:5000	2	0	0.72	100
≥ 1:10000	1	0	0.36	100

* p < 0.001

FIGURE 2

Courbe COR pour le système
auto-antigénique Ta

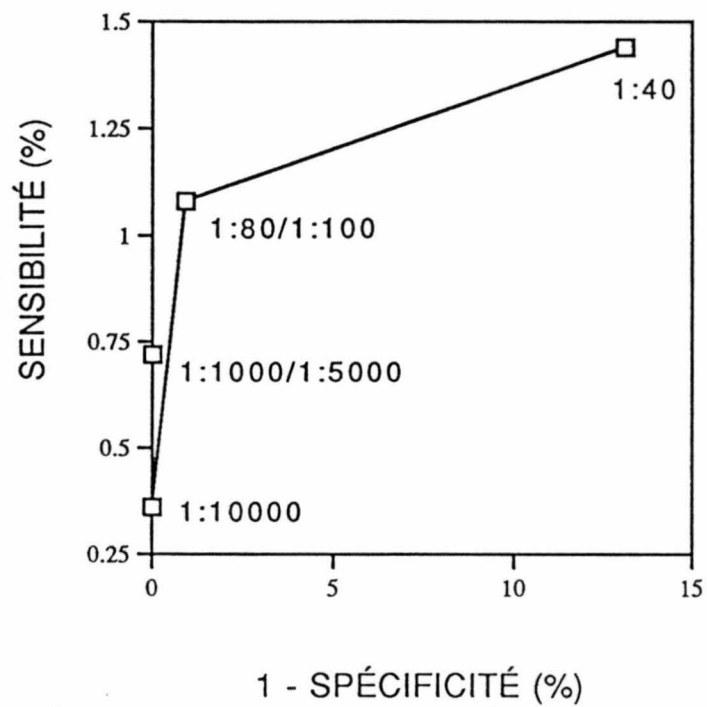


FIGURE 3

**Dépistage du système auto-antigénique Ta anti-Ta
chez les patients du groupe PR à l'aide de l'immunoblot.**

Les marqueurs de masse moléculaire sont dans la piste 0.
Les pistes marquées d'un + correspondent au témoin positif soit
une dilution 1:100 d'un liquide de plasmaphérèse de la patiente
Ta.

La piste marquée du signe - correspond au témoin négatif soit
une dilution 1:40 du sérum d'un donneur sain.

Les accolades numérotées 1, 2 et 3 correspondent aux résultats
des 3 patients PR positifs testés à diverses dilutions soit de
gauche à droite pour le patient 1 les dilutions 1:40, 1:100,
1:5000, 1:10000 et pour les patients 2 et 3, les dilutions
1:40, 1:100, 1:1000, 1:10000.

Les titres de lectures positives étaient 1:1000 pour le patient
1, 1:100 pour le patient 2 et 1:10000 pour le patient 3.

Illustration de la figure 3

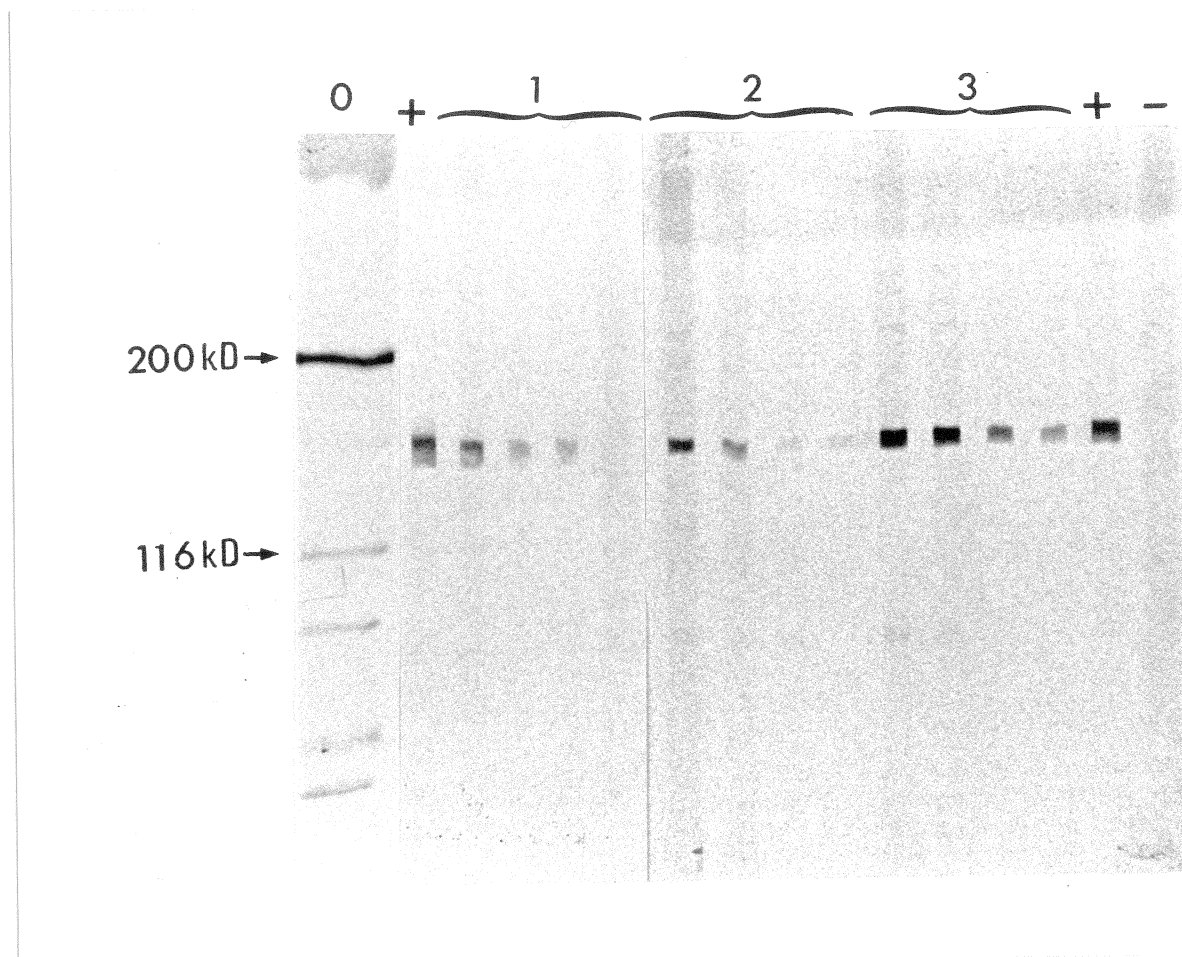


FIGURE 4

Résultats des immunoprécipitations (IP)
effectuées chez les 3 patients avec PR anti-Ta positifs
et révélées à l'aide de l'immunoblot.

- Piste 1: Marqueurs de masse moléculaire.
- Piste 2: Immunoprécipitation effectuée à l'aide du
sérum d'un donneur sain (anti-Ta (-)).
- Piste 3: IP effectuée à l'aide du liquide de plasma-
phérèse de la patiente Ta (anti-Ta (+)).
- Piste 4: IP effectuée chez un patient PR anti-Ta
négatif.
- Pistes 5,6,7: IP effectuée chez chacun des 3 patients PR
anti-Ta (+). Ce sont de droite à gauche dans
l'ordre les patients 1,2,3 de la figure no.3.

Les signes (+) et (-) correspondent aux sérums utilisés pour
la révélation de l'IB; soit (+) pour la plasmaphérèse de la
patiente Ta diluée à 1:100 et (-) pour le sérum d'un témoin
sain non porteur d'anticorps anti-Ta dilué à 1:40.

Illustration de la figure 4

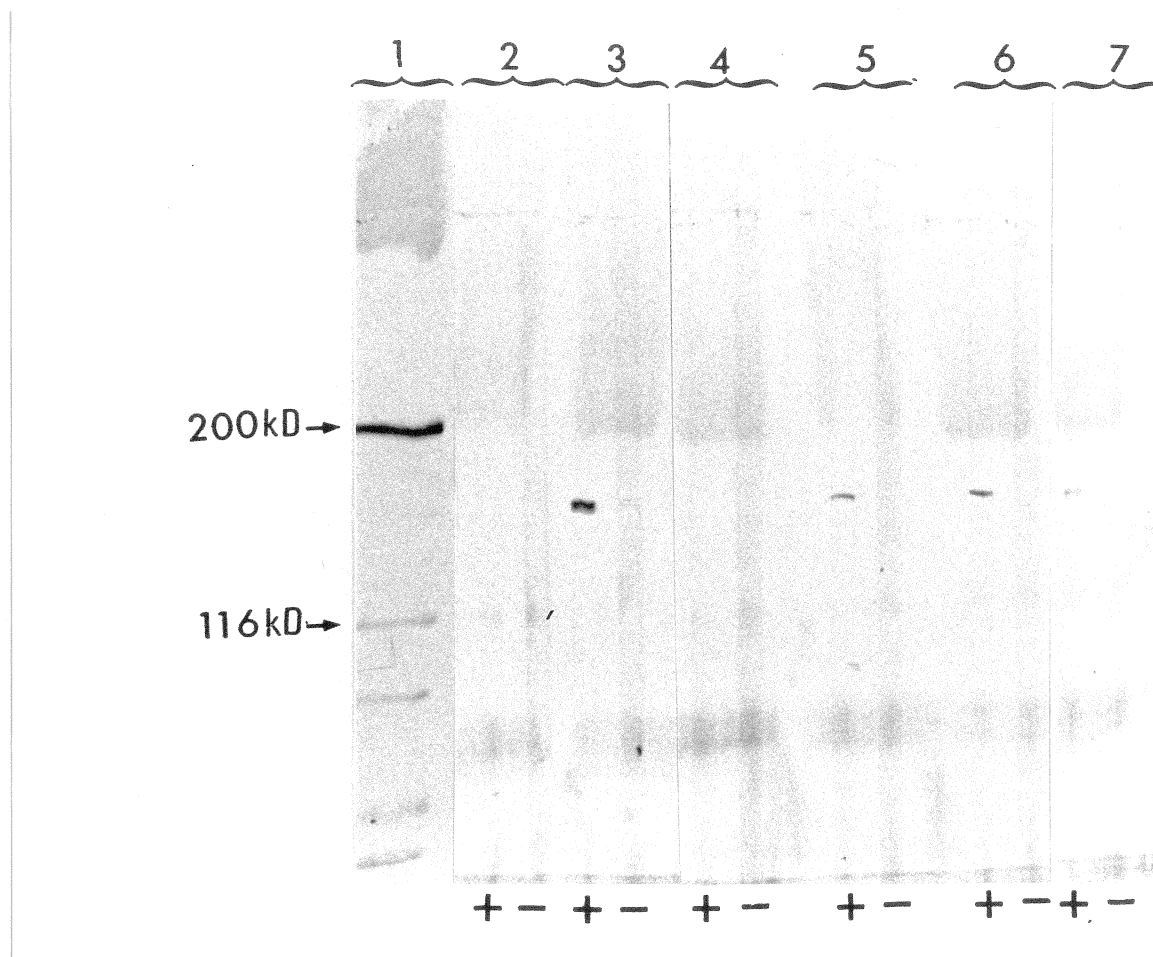


FIGURE 5

Dépistage du système auto-antigénique Ta-anti-Ta
chez les patients du groupe témoin à l'aide
de l'immunoblot.

- Piste 1: Marqueurs de masse moléculaire.
- Pistes 2,3,4,5: Patient témoin positif; dilutions de gauche
à droite 1:80, 1:100, 1:1000, 1:10000.
- Piste 6: Témoin positif; patiente Ta (dilution
1:100).
- Piste 7: Témoin négatif; sérum d'un individu sain dilué
à 1/40.

Illustration de la figure 5

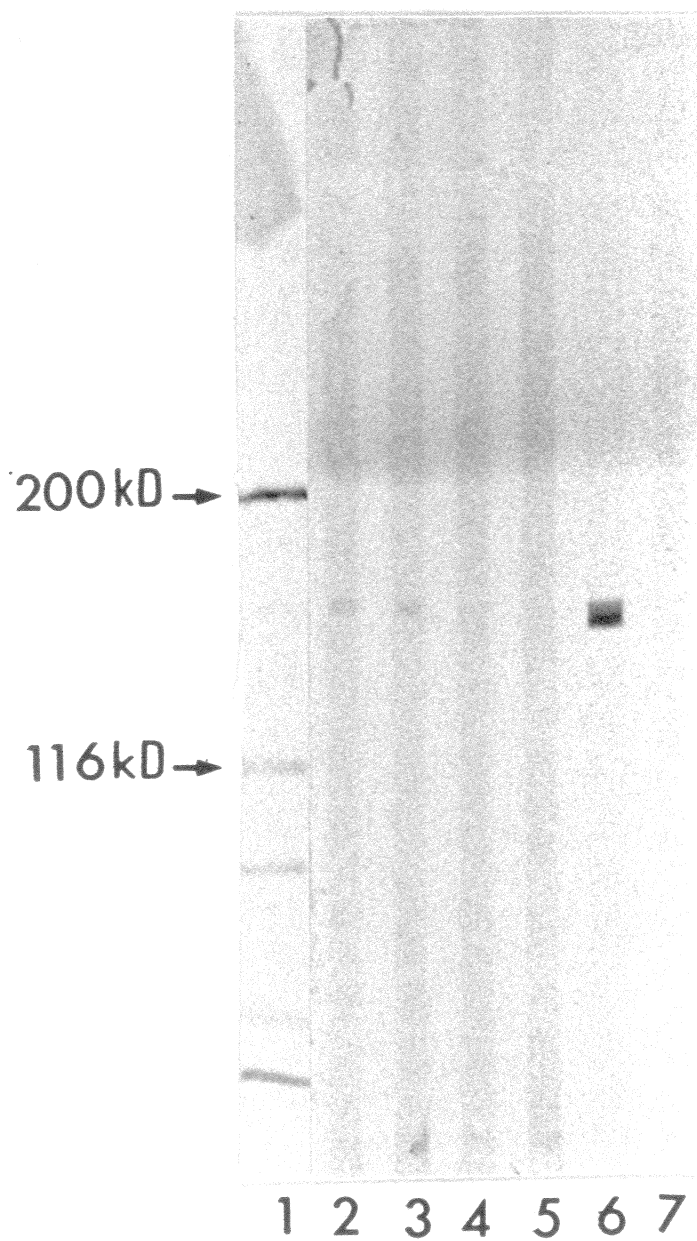


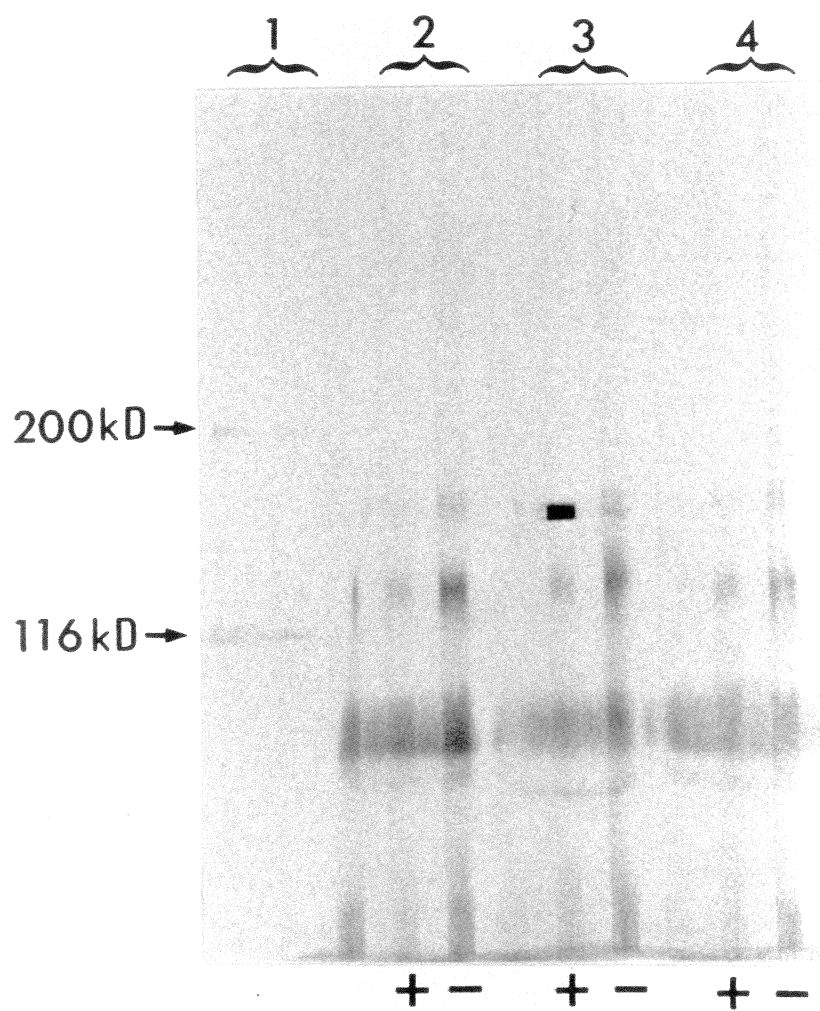
FIGURE 6

Résultat d'immunoprécipitation (IP), effectuée chez la patiente anti-Ta (+) du groupe témoin et révélée à l'aide de l'immunoblot.

- Piste 1: Marqueurs de masse moléculaire.
- Piste 2: IP effectuée à l'aide du sérum d'un individu sain anti-Ta (-).
- Piste 3: IP effectué à l'aide de la plasmaphérèse de la patiente Ta (anti-Ta (+)).
- Piste 4: IP effectuée à l'aide du sérum du patient témoin anti-Ta (+) à l'IB au titre 1:100.

Les signes (+) et (-) correspondent aux sérums utilisés pour la révélation de l'IB; soit (+) la patiente Ta (dilution 1:100) et (-) pour le sérum d'un contrôle sain non porteur d'anticorps anti-Ta (dilution 1:40).

Illustration de la figure 6



3.5 Caractéristiques cliniques des patients rhumatoïdes porteurs du système autoantigénique Ta/anti-Ta:

Il n'y avait pas de différence significative entre les trois patients anti-Ta positifs et le reste du groupe des patients rhumatoïdes pour la plupart des variables cliniques étudiées soit (tableau 8), l'âge au diagnostic, la distribution des sexes, la durée moyenne de la maladie, de même que pour les grades fonctionnels et radiologiques moyens.

Les patients Ta (+) présentaient par contre un nombre moyen de manifestations extra-articulaire qui était significativement plus élevé que les manifestations observées dans le reste du groupe rhumatoïde (2.33 ± 1.55 versus 0.62 ± 0.76 , $p < 0.001$).

Le détail des manifestations extra-articulaires observées se trouve au tableau 9. On peut y voir que ce sont les atteintes du système lymphocytaire avec la splénomégalie ($p = 0.016$) et l'atteintes pulmonaire rhumatoïde ($p = 0.017$) qui sont statistiquement plus fréquentes (Test exact de Fisher) que les autres manifestations extra-articulaires.

TABLEAU 8

CARACTÉRISTIQUES CLINIQUES DES PATIENTS PR
ANTI-Ta (+) ET (-)

	ANTI-Ta (+) (n=3)	ANTI-Ta (-) (n=274)
AGE (années)	45.0 ± 18.36	48.22 ± 12.96
SEXE FÉMININ	3	176
SEXE MASCULIN	0	98
DURÉE DE LA MALA- DIE (mois)	134.33 ± 114.86	106.84 ± 102.74
GRADE FONCTIONNEL (I à IV)	2,67 ± 0,47	1,88 ± 0,76
GRADE RADIOLOGI- QUE (0 à 4)	2.00 ± 1.00	2.35 ± 1.15
NOMBRE DE MANI- FESTATIONS EXTRA- ARTICULAIRES	2.33 ± 1.55 *	0.62 ± 0.76

* p < .01

TABLEAU 9

FRÉQUENCE DES MANIFESTATIONS
EXTRA-ARTICULAIRES CHEZ LES PATIENTS
PR ANTI-Ta (+) ET (-)

	ANTI-Ta (+) (n=3)	ANTI-Ta (-) (n=274)
Atteintes cutanées (vascu- larites purpura)	1	16
Hépto-splénomégalie	2 *	19
Présence de nodosités rhu- matoïdes	2	111
Atteintes pulmonaires	2 **	20
Atteintes oculaires (épis- clérite)	0	0

* p < .01

** p < .05

Au tableau 10, sont détaillées les caractéristiques de laboratoire des patients rhumatoïdes étudiés. Il n'y avait pas de différence statistiquement significative entre les trois patients anti-Ta positifs et le reste des patients PR dans les mesures des protéines du complément (C3, C4), ANA, au niveau du nombre moyen de leucocytes, ni au niveau de la quantité moyenne de cryoglobulines.

Les patients anti-Ta positif présentaient par contre des niveaux significativement plus élevés de FR par rapport aux autres patients PR (2333.33 ± 1527.53 UI/l par rapport à 265.48 ± 466.88 UI/l, $p = 0.001$). Le niveau d'hémoglobine moyen était aussi significativement plus bas chez les patients Ta (+) à 105.0 ± 19.3 g/l par rapport à 127.93 ± 18.0 g/l chez les patients avec PR anti-Ta (-) ($p = 0.030$).

L'examen des manifestations cibles du tableau 11 n'a pas permis d'observer une différence significative au niveau du grade fonctionnel \geq II ou du grade radiologique \geq 2, ces niveaux reflétant une maladie plus sévère chez les patients avec PR.

Par contre 2 des 3 patients Ta positifs présentaient plus de deux manifestations extra-articulaires par rapport à 30 patients sur 274 patients avec PR anti-Ta (-). En fait ces deux mêmes patients anti-Ta (+) présentaient 3 manifestations extra-articulaires, une situation observée chez seulement 7/274 patients PR anti-Ta (-). Ces différences étaient statisti-

quement significatives lorsqu'on utilisait le test exact de Fisher ($p = 0.003$).

Un de ces deux patients anti-Ta (+) avec trois manifestations extra-articulaires est la patiente Ta elle-même. Il s'agit d'une dame qui présentait en plus de son arthrite des nodosités rhumatoïdes, un syndrome de Felty (splénomégalie et leucopénie) de même qu'une vascularite rhumatoïde avec ulcères pré-malléolaires. Il y avait 3 des 274 patients avec PR anti-Ta (-) qui présentaient un syndrome de Felty. La comparaison des fréquences de syndrome de Felty entre les patients avec PR anti-Ta(+) et anti-Ta (-) n'était pas statistiquement significative ($p=0.053$ au test exact de Fisher).

Le second cas est celui d'une patiente qui présentait des nodosités rhumatoïdes, une hépatosplénomégalie ainsi qu'une atteinte pleuro-pulmonaire rhumatoïde.

Pour ce qui est des marqueurs de sévérité de la maladie, détaillés au tableau 10, il n'y avait pas de différences significatives entre les patients PR Ta(+) et Ta (-), pour ce qui est de la fréquence des patients avec FR supérieur à 80 UI/l et ANA à titre au dessus de 1:80, de même que pour la fréquence de C3 et C4 abaissés, la présence de protéinurie ou l'utilisation de prednisone.

On trouvait par contre, une différence significative du nombre de patients avec décompte leucocytaire inférieur à 4000

x 10^9 cellules/l soit deux patients Ta (+) par rapport à 7/274 patients PR Ta (-) ($p = 0.003$). Enfin chez les trois patients anti-Ta (+) on notait la présence d'une élévation significative des cryoglobulines par rapport à 93/274 patients anti-Ta (-) cette observation était aussi statistiquement significative au test exact de Fisher ($p = 0.04$). Aucun des trois patients avec PR anti-Ta (+) n'était porteur d'anticorps anti-Ro.

TABLEAU 10

CARACTÉRISTIQUES DE LABORATOIRE DES PATIENTS
PR ANTI-Ta (+) ET (-)

	ANTI-Ta (+) (n=3)	ANTI-Ta (-) (n=274)
FR U/ml	2333.33 ± 1527.53 *	265.48 ± 466.88
ANA #	4 ± 0.	2.16 ± 2.7
C3 (mg/dl)	128.33 ± 58.38	135.79 ± 32.01
C4 (mg/dl)	24.67 ± 8.08	26.93 ± 11.42
Hb (g/l)	105.00 ± 19.29 *	127.93 ± 18.05
Nombre de leu- cocytes (x10 ⁹ /l)	5366.67 ± 3323.15	7944.16 ± 2371.69
Cryoglobulines (μg/ml)	105.40 ± 41.04	49.15 ± 72.12

* p < .01

log₂ de dilution où 1 est 1:40

TABLEAU 11

MANIFESTATIONS CIBLES ET MARQUEURS DE SÉVÉRITÉ
CHEZ LES PATIENTS RHUMATOIDES
ANTI-Ta (+) ET (-)

	ANTI-Ta (+) (n=3)	ANTI-Ta (-) (n=274)
Grade fonctionnel ≥ II	3	179
Grade radiologique ≥ 2	2	223
Manifestations ex- tra-articulaires		
≥ 2	2 *	30
≥ 3	2 **	7
Fr ≥ 80 U/ml	3	143
ANA ≥ 1:80 (titre)	3	118
C3 < 94 (mg/dl)	1	20
C4 < 16 (mg/dl)	0	22
Leucocytes < 4000 (x10 ⁹ /l)	2 **	7
Cryoglobulines > 40 (μg/ml)	3 *	93
Protéinurie	1	25
Prednisone	2	72

* p < 0.05

** p < 0.01

4. DISCUSSION:

4.1 Standardisation et fiabilité de l'immunoblot:

L'immunoblot est un outil diagnostique dont l'utilisation comme test de dépistage n'est pas très répandu dans le domaine des maladies rhumatismales. Bien qu'elle soit reconnue pour sa haute sensibilité et spécificité, cette technique de laboratoire est coûteuse et présente des difficultés techniques qui en font une méthode de second choix pour le dépistage de maladies rhumatologiques (Dunbar et Schwoedel, 1990; Senécal et al.1993). La raison pour laquelle nous avons choisi cette méthode plutôt que l'immunofluorescence indirecte ou l'ELISA (enzyme-link-immunosorbent-assay) pour détecter le système auto-antigénique Ta/anti-Ta est que ces deux autres méthodes présentaient elles aussi des difficultés techniques qui semblaient insurmontables à court terme. La diversité polyclonale des anticorps retrouvés chez les patients porteurs d'anti-Ta rendait l'immunofluorescence sur les substrats habituels (cellules HEP-2 etc.) ininterprétable avec un type de fluorescence mixte de faible intensité et les tentatives de mise au point d'ELISA se sont heurtées aux difficultés associées à la purification des extraits cellulaires. La spécificité obtenue à l'aide de ces deux techniques était inadéquate. Il aurait fallu pouvoir purifier et éventuellement

identifier la nature exacte de la protéine Ta avant de procéder à la mise au point d'une méthode d'ELISA fiable.

L'immunoblot dans ce contexte devenait un outil alternatif adéquat puisqu'il n'est pas aussi exigeant au niveau de la pureté des extraits cellulaires utilisés puisque la séparation des protéines selon la masse moléculaire augmentait la spécificité du test.

Il aura malgré tout fallu plusieurs mois de travail et différentes tentatives de purification et semi-purification pour trouver des extraits adéquats pour effectuer l'étude. Différentes conditions d'électrophorèse et de révélation ont été étudiées afin de standardiser la méthode pour obtenir des résultats de bonne qualité, hautement reproductibles. Pendant cette même période, des variations importantes ont été observées au niveau des résultats d'IB obtenus: Ils variaient selon certains détails techniques, comme la concentration d'acrylamide utilisée dans le gel séparateur ou l'expertise technique du manipulateur. Des variations au niveau de l'interprétation des membranes de nitrocellulose ont aussi été observées.

La notion de validation interne de l'outil de recherche soit l'évaluation de la fiabilité de l'IB utilisé comme outil diagnostique a alors été abordé. La fiabilité d'un test réfère à sa reproductibilité aussi bien sur le plan technique, lorsque l'on répète de nouveau l'analyse, qu'au niveau de l'interpréta-

tion des résultats. On parle alors de fiabilité inter-observateur, lorsque l'interprétation de différents individus est comparée et de fiabilité intra-observateur, lorsque la première interprétation par un individu est comparée à une seconde interprétation par le même individu.

Une revue de la littérature a permis de constater que la notion de fiabilité est rarement étudiée par les chercheurs utilisant l'IB. Dans le domaine de la rhumatologie, l'IB était plutôt utilisé comme technique de confirmation ou de validation des tests immuno-enzymatiques (ELISA).

On peut citer comme exemple, la validation de tests pour le dépistage de la borréliose de Lyme (Karlsson et al.1989), ou celui pour la détection des anti-histones chez les patients avec PR (Costa et Monier, 1986).

L'IB semble donc considéré plus comme un outil de recherche descriptif, pour la caractérisation biochimique de systèmes auto-immuns déjà connus comme par exemple, le système PM/SCL (Gelpi et al.1990) ou la caractérisation de nouveaux systèmes auto-antigéniques.

L'utilisation de l'IB comme test de dépistage d'un système auto-immun et l'évaluation de la fiabilité de l'IB semblent donc être des approches originales dans le domaine de l'auto-immunité des maladies rhumatismales.

L'IB standardisé pour le système Ta anti-Ta, a donc fait l'objet d'une étude de validation interne. Il a été soumis à

la lecture de deux observateurs indépendants dont l'une était la lectrice attitrée de l'étude, qui a interprété "à l'aveugle", les résultats d'IB des 403 patients testés.

Le coefficient de corrélation kappa (kappa de Cohen) a été utilisé pour quantifier le taux de concordance obtenu aussi bien au niveau de la reproductibilité du test qu'au niveau de la lecture des IB (fiabilité inter-observateurs et intra-observateur). Cet indice de concordance tel que mentionné plus haut, tient compte de l'effet du hasard sur les observations faites par deux observateurs différents ou dans un cas d'une seconde observation par un même observateur. Les résultats obtenus avec des kappas à 0.904 ± 0.094 pour la reproductibilité et à 1.00 pour la fiabilité d'interprétation inter et intra-observateurs suffisent à confirmer la haute fiabilité de la technique telle que standardisée. Des kappas au dessus de 0.81 sont considérés comme excellents (Landis et Koch, 1977).

Bien que fiable sur le plan mathématique. il n'en demeure pas moins qu'il existera toujours une part de subjectivité dans l'interprétation des IB. L'intensité et la netteté des lignes de réaction, leur position par rapport aux témoins positifs et aux marqueurs de poids moléculaire de même que la présence d'un bruit de fond, sont des facteurs qui détermineront la fréquence des lectures dites indéterminées.

Dans cette étude la standardisation de la technique a permis d'éliminer les résultats indéterminés puisque seulement

9 de ces résultats ont été obtenus sur les 403 patients de l'étude et cela sans aucune lecture indéterminée chez les patients rhumatoïdes. Ceci justifie le rejet des tests indéterminés par la dichotomisation des résultats en tests positifs et négatifs.

4.2 Sensibilité et spécificité du système Ta/anti-Ta pour la polyarthrite rhumatoïde:

Pour ce qui est de la sensibilité du système auto-antigénique Ta/anti-Ta pour la PR, une sensibilité à 1.08%, n'en fait certainement pas un test à valeur diagnostique. On remarquera que ce résultat est bien loin de la sensibilité à 13% qui avait été obtenue dans les études préliminaires. Or dans les études préliminaires, il y a eu un fort biais de sélection en faveur de patients avec PR plus sévère présentant des manifestations extra-articulaires, ce qui explique la fréquence élevée d'anti-Ta obtenue. Un autre phénomène qui pourrait expliquer cette surévaluation de la fréquence des patients porteurs du système dans les études préliminaires, c'est le fait que les IB utilisés initialement n'étaient pas standardisés pour le système Ta/anti-Ta. Les électrophorèses étaient effectuées dans des gels séparateurs avec une concentration de 15% d'acrylamide ce qui diminuait de beaucoup la résolution de détection du système dans la partie supérieure

de la membrane de nitrocellulose. Par voie de conséquence on favorisait donc des lectures faussement positives de systèmes auto-immuns dont les protéines cibles auraient été à un niveau migratoire différent du témoin positif, si l'électrophorèse avait été effectuée dans un gel séparateur à 6% d'acrylamide. De plus, la nature des extraits cellulaires ou tissulaires utilisés comme source protéinique influence la qualité des IB et favorise la présence de résultats faussement positifs.

La conséquence de cette surévaluation des résultats positifs aux tests préliminaires a eu comme conséquence de sous-évaluer le nombre de patients nécessaires pour l'étude. Pour obtenir des fréquences de détection statistiquement significatives, dans un intervalle de confiance à 95% avec une puissance à 80%, il m'aurait fallu augmenter le nombre de patient par groupe à près de 1000 cas. Ceci aurait signifié que pour le groupe témoin seulement, il aurait fallu revoir, compte tenu du taux de rejet d'approximativement 54% des patients sélectionnés à l'ordinateur plus de 2200 dossiers, une très longue entreprise. Il aurait aussi été nécessaire d'augmenter le nombre de patients avec PR ce qui aurait signifié une modification du type de sélection de ces patients (de façon aléatoire plutôt que successive) et aurait eu comme conséquence de devoir ajouter aux dossiers de patients témoins à réviser, de nombreux dossiers de patients avec PR.

La composition du groupe des patients PR étudiés était semblable à celle rapportée dans la littérature tel qu'illustré au tableau 6. Il faut par contre garder en mémoire qu'il s'agit de patients PR référés à un centre universitaire et que par conséquence, les résultats obtenus ne s'appliquent qu'à une telle population.

Pour ce qui est de la composition du groupe témoin (tableau 5), elle est définitivement biaisée en faveur de diagnostics de maladies inflammatoires du tissu conjonctif. Ces dernières composent à elles seules près de 46% des patients témoins. Ce sont le LED (27%), le syndrome de Sjögren (7.8%), la sclérose systémique (7.8%), et la maladie mixte du tissu conjonctif (3.5%). En revanche d'autres maladies comme l'ostéoarthrose ou la goutte par exemple, ne composent qu'une faible proportion des patients du groupe témoin, bien que ces maladies soient plus fréquentes sur le plan épidémiologique et probablement plus fréquemment confondues avec la PR sur le plan clinique. Au moment de faire l'échantillonnage aléatoire des patients de la banque de sérums, un nombre prédéterminé de sérums (100) était sélectionné. Il arrivait fréquemment que ce nombre ne puisse pas être atteint puisqu'il n'y avait pas suffisamment de sérum étiquetés avec le diagnostic demandé dans les données de la banque. Toutes les données disponibles étaient alors utilisées. Cette situation est survenue dans plusieurs des catégories diagnostiques y compris l'ostéoart-

hrose, la goutte et les arthrites infectieuses. La raison pour laquelle ces catégories diagnostiques sont sous-représentées dans la banque de sérums dépend de son rôle comme outil pour le service clinique plutôt que pour la recherche. Comme les évaluations sérologiques sont généralement demandées pour des patients présentant des maladies inflammatoires du conjonctif, cette catégorie se trouve à être sur-représentée dans la banque de sérum au détriment de pathologies beaucoup plus fréquentes sur le plan épidémiologique mais ne présentant pas (présentement) d'intérêt sur le plan immunologique. Un tel biais ne représentait pas un désavantage en ce qui concerne une recherche sur un nouveau système auto-immun. Au contraire, ces maladies sont plus susceptibles de produire des systèmes semblables ou même identiques à celui étudié, ce qui serait un biais favorable qui donnerait beaucoup plus de valeur à une affirmation concernant la grande spécificité des auto-anticorps.

Par contre ce type de sélection des patients du groupe témoin reflète en rien la prévalence des différentes pathologies rhumatismales retrouvées en clinique externe de rhumatologie du CHUS. La détermination de prévalences théoriques à partir de données disponibles dans la littérature est difficile et irréaliste. Aussi est-il impossible de calculer des valeurs prédictives pour la détection des anticorps Ta à partir de la présente étude. Il aurait fallu obtenir un groupe témoin qui soit plus représentatif de

l'ensemble des patients référés en clinique externe de rhumatologie pour investigation d'"arthrite" pendant la période de l'étude initiale sur l'anti-Ro.

La spécificité obtenue à l'IB pour le système auto-immun Ta est de 99.1% pour la PR. Par contre, le nombre de patient testé nous invite à la prudence quant à l'interprétation de ce résultat. Les différences de fréquences observées n'étaient d'ailleurs pas statistiquement significatives au titre de détection (1:80) choisi à l'aide de la courbe COR (figure 2). Tel que mentionné dans la section des résultats les 15 tests positifs observés dans le groupe contrôle à plus faible titre (1:40), représentaient fort possiblement des tests faussement positifs. Il est intéressant de noter la haute fréquence de spondylarthropathies séronégatives observée parmi ces patients témoins positifs soit 11/15 cas. La plupart de ces patients avaient été testés sur la même membrane de nitrocellulose. Cet immunoblot présentait un bruit de fond particulièrement élevé. Comme ces résultats se sont négativés à plus haut titre (1:80 et plus) ces résultats malgré leur regroupement diagnostique, doivent être considérés comme des artefacts.

En ce qui concerne l'unique patient témoin positif à 1:100, il s'agissait tel que mentionné plus haut d'un cas de sarcoïdose pulmonaire avec douleurs articulaires... sans synovite. Bien que ce résultat ait été lu comme positif, compte tenu du résultat d'immunoprécipitation négatif (figure 6)

obtenu avec ce sérum, il s'agit donc ici aussi d'un résultat faussement positif.

On remarquera que dans le groupe PR, le patient positif au titre 1:100 présentait une immunoprécipitation positive (figure 3 et 4) ce qui suggère qu'à ce titre, il est possible de détecter le système Ta anti-Ta à l'aide de cette méthode et qu'on aurait pu s'attendre à obtenir un résultat d'IP positif chez ce patient témoin positif. Or il n'en est rien, ce qui vient soutenir l'hypothèse selon laquelle le seul résultat positif obtenu dans le groupe contrôle à 1:80, était probablement un résultat faussement positif.

Concernant les résultats d'IP, il faut être prudent dans l'interprétation des résultats. Bien que les 3 patients PR anti-Ta positifs ont présenté des IP également positives, (figure 3A et B) il est impossible d'affirmer que ces deux techniques, l'IB et l'IP sont équivalentes sur le plan de l'identification des auto-anticorps étudiés. On se souviendra que l'immunoblot se fait sur des protéines dénaturées par la chaleur en présence d'un détergent le SDS. Un des avantages de l'immunoprécipitation est le fait que la réaction de précipitation des billes de protéine A recouvertes d'anticorps IgG, se fait avec des protéines dites natives dont la conformation stérique est plus proche des conditions naturelles de l'organisme que celles que l'on retrouve au niveau du gel dénaturant (Dunbar et Schwoedel, 1990). Le fait que 3/3

patients PR anti-Ta positifs à l'IB le furent aussi à l'IP, suggère que la forme native ou dénaturée, c'est-à-dire que la conformation de la protéine, semble avoir peu d'influence sur la reconnaissance de l'antigène Ta par les anticorps anti-Ta.

4.3 Valeur pronostique du système Ta/anti-Ta dans la polyarthrite rhumatoïde:

Le devis de l'étude cas-témoin représente définitivement une situation sous-optimale en ce qui concerne une étude pronostique. Ce type d'étude donne une image statique d'un groupe de patients et ne permet donc pas de suivre la progression de la maladie rhumatoïde au cours des années. Je pense par contre qu'il était indispensable de mener ce genre d'étude avant de penser entreprendre une étude de cohorte prospective. Un devis cas-témoin utilisant une série de patient recrutés de façon adéquate, représente une alternative à l'étude de cohorte qui est fort acceptable compte- tenu de la nature exploratoire de la présente étude.

L'étude comparative détaillée des manifestations cibles retrouvées chez les trois patients anti-Ta positif par rapport au reste du groupe PR s'est révélée fort intéressante. Malgré le petit nombre de patients anti-Ta positifs, 3 sur 277, des différences statistiquement significatives, au test exact de Fisher, ont été obtenues pour ce qui est du nombre de manifestations extra-articulaires (tableaux 8,9 et 11). Elles se retrouvaient relativement plus fréquemment chez les patients anti-Ta positifs par rapport aux patients PR anti-Ta négatifs. Ce sont, tel que détaillé au tableau 9, les atteintes pulmonaires rhumatoïdes ainsi que des manifestations associées

au système lymphatique soit une hépato/splénomégalie qui seraient plus fréquentes chez ces patients. Les deux autres manifestations cibles, (grade fonctionnel $>$ ou $=$ à II, grade radiologique $>$ ou $=$ à 2) ne présentaient pas par contre de différences significatives au niveau de leur fréquence entre patients avec PR anti-Ta positif et négatif.

Il est possible que nous eussions obtenu des résultats différents en ce qui concerne le grade fonctionnel si l'outil de mesure utilisé avait été plus adéquat. Les critères de Steinbröcker, utilisés comme référence par l'CAR pour ce qui est du grade fonctionnel, sont généralement considérés par les rhumatologues comme un outil de mesure un peu trop grossier et plutôt inadéquat. Il existe depuis quelques années d'autres outils de mesure beaucoup plus appropriés pour mesurer à l'aide de questionnaires validés le niveau fonctionnel des patients tels que, le HAQ (Health Assessment Questionnaire) ou le AIMS (Arthritis Impact Measurement Scale) (Leigh et Fries, 1991; Meenan et al.

1980). Il aurait été intéressant d'avoir des mesures prises avec de tels outils au moment de l'étude initiale sur le Ro. Ces mesures plus sensibles que les critères utilisés auraient peut-être permis de trouver des différences significatives entre les patients avec PR anti-Ta positifs et négatifs. Le même commentaire peut s'appliquer au sujet de l'échelle de mesure radiologique utilisée dans l'étude du Ro. Ici encore,

des outils de mesure beaucoup plus sophistiqués ont été développés et pourraient être utilisées dans de futures études prospectives sur le pronostic des patients PR (Sharp, 1989).

En ce qui concerne les marqueurs de mauvais pronostic, il est intéressant de noter au tableau 10, la présence de différences significatives au niveau de la fréquence d'une leucopénie ($< 4000 \times 10^9$ cellules/l de même qu'au niveau de l'augmentation des cryoglobulines, phénomènes associés à la PR sévère avec manifestations extra-articulaires multiples (Weisman et Zvaifler, 1975; Erhardt et al.1989).

Au tableau 10, plusieurs variables de laboratoire présentaient aussi des différences significatives entre patients PR Ta positif et négatif. Ce sont une élévation plus importante du niveau moyen du FR, de même que celui du titre moyen des ANA, ainsi que la présence d'un plus bas niveau moyen d'hémoglobine, retrouvés chez les patients anti-Ta (+) par rapport aux autres patients négatifs.

Ces éléments peuvent aussi venir appuyer l'hypothèse selon laquelle les patients PR anti-Ta positifs seraient plus sévèrement affectés par la maladie rhumatoïde.

Il faut par contre demeurer prudent dans l'interprétation de ces résultats compte tenu du petit nombre de patients étudiées. Il serait donc plus juste de parler de tendance en faveur du fait que la présence du système Ta/anti-Ta chez les

patients rhumatoïde soit possiblement associée à une maladie plus sévère avec plus de manifestations cliniques extra-articulaires et plus d'anomalies au niveau du laboratoire et de la sérologie; le tout étant associé à un mauvais pronostic. Cette tendance devra être confirmée à l'aide d'études prospectives effectuées sur un plus grand nombre de patients.

4.4 Conclusion:

J'ai étudié à l'aide d'un immunoblot standardisé et validé, un nouveau système auto-antigénique pour la PR, le système Ta/anti-Ta. J'ai effectué une étude cas-témoin sur une cohorte préassemblée de 277 patients PR comparée à un groupe de 115 patients souffrant de diverses maladies rhumatismales. Ce système semble peu fréquent dans la PR puisque seulement 3 patients se sont avérés positifs, ce qui donne une sensibilité diagnostique de seulement 1.08% au titre de dépistage utilisé (1:80). A ce même titre, on obtient par contre un seul cas positif dans le groupe témoin donnant une spécificité de 99.1%.

L'étude des caractéristiques cliniques et de laboratoire des patients rhumatoïdes suggère une possible association entre la présence du système Ta/anti-Ta et la sévérité de la maladie, telle que définie par une maladie avec plusieurs manifestations

extra-articulaires ainsi que la présence d'anomalies sérologiques associées à un mauvais pronostic.

Une étude prospective sur un plus grand nombre de patient sera nécessaire pour confirmer ces résultats.

Une caractérisation biochimique plus approfondie du système auto-antigénique sera aussi nécessaire pour comprendre les conséquences pathogéniques de la présence d'anticorps anti-Ta, dans la polyarthrite rhumatoïde.

REMERCIEMENTS

J'aimerais remercier mon directeur de recherche le Dr Henri Ménard pour m'avoir offert l'extraordinaire opportunité de pouvoir travailler dans son laboratoire et y mener la recherche qui fait l'objet de ce mémoire.

J'aimerais aussi remercier le Dr Gilles Boire pour m'avoir permis d'utiliser les données recueillies lors de son étude sur le système Ro/anti-Ro.

J'aimerais enfin remercier Linda, ma compagne pour son soutien moral au cours des deux dernières années et aussi pour ses judicieux conseils lors de la rédaction de ce mémoire de maîtrise.

REFERENCES:

Dictionnaire de Médecine Flammarion.(1975) Flammarion
Médecine-Sciences, Paris,p 54

Abe Y, Inada S, Torikai K (1988) A new autoantibody in patients
with rheumatoid arthritis: characterization of the anti-HaT-1
antibody system. Arthritis Rheum 31:135-139

Adib-Conquy M, Avrameas S, Ternynck T (1993) Monoclonal IgG and
IgM autoantibodies obtained after polyclonal activation, show
reactivities similar to those of polyclonal natural autoantibo-
dies. Molecular Immunol 30:119-127

Altman R, Asch E, Bloch D, Bole G, Borenstein D, Brandt K,
Christy W, Cooke TD, Greenwald R, Hocherg M, Howell D, Kaplan
D, Koopman W, Longley S, Mankin H, McShane DJ, Medsger Jr,T.,
Meenan R, Mikkelsen W, Moscovitz R, Murphy W, Rothschild B,
Segal M, Sokoloff L, Wolfe F (1986) Development of Criteria for
the classification and reporting of osteoarthritis. Arthritis
Rheum 29:1039-1049

Altman R, Alarcón G, Appelrouth D, Bloch D, Borenstein D, Brandt K, Brown C, Cooke TD, Daniel W, Feldman D, Greenwald R, Hochberg M, Howell D, Ike R, Kapila P, Kaplan D, Koopman W, Marino C, Mcdonald E, McShane DJ, Medsger T, Michel B, Murphy WA, Osial T, Ramsey-Goldman R, Rothschild B, Wolfe F (1991) The American College of Rheumatology Criteria for the Classification and Reporting of Osteoarthritis of the hip. *Arthritis Rheum* 34:505-514

Andersen I, Andersen P, Graudal H (1980) Smooth-Muscle antibodies in rheumatoid arthritis. *Acta Pathol Microbiol Scand, Sect C* 88:131-135

ARA Glossary Committee: Signs and symptoms. (1982) *Dictionary of the Rheumatic Diseases Volume II*. Contact Associates International Ltd., Bayport NY

ARA Glossary Committee: Diagnostic Testing. (1988) *Dictionary of the Rheumatic Diseases Volume II*. Contact Associates International Ltd., Bayport NY

Bahr GM, Rook GAW, Al-Saffar M, van Embden J, Stanford JL, Behbehani K (1988) Antibody levels to mycobacteria in relation to HLA type: evidence for non-HLA-linked high levels of antibody to the 65 kD heat shock protein of M.bovis in rheumatoid arthritis. Clin exp Immunol 74:211-215

Boers M, Tugwell P (1993) The Validity of Pooled Outcome Measures (Indices) in Rheumatoid Arthritis Clinical Trials. J Rheumatol 20:568-574

Boire G, Craft J (1989) Biochemical and immunological heterogeneity of the Ro ribonucleoprotein particules. J Clin Invest 84:270-279

Boire G, Ménard HA (1988) Clinical significance of anti-Ro (SSA) antibody in rheumatoid arthritis. J Rheumatol 15:391-394

Carson DA (1989) Rheumatoid Factor. dans: Kelley WN, Harris Jr, E.D., Ruddy S, et al (eds) Textbook of Rheumatology. W.B.Saunders, Philadelphia, pp 198-207

Cobb S, Anderson F, Bauer W (1953) Length of life and cause of death in rheumatoid arthritis. N Engl J Med 249:553-556

Cohen MG, Webb J (1989) antihistone antibodies in rheumatoid arthritis and Felty's syndrome. *Arthritis Rheum* 32:1319-1324

Costa O, Monier J-C (1986) Antihistone Antibodies Detected by ELISA and Immunoblotting In Systemic Lupus Erythematosus and Rheumatoid Arthritis. *J Rheumatol* 13:722-725

Dean JA, Dean AG, Burton A, Decker R, Brenner E (1989) *Epi Info* version 5, Centers for Disease Control, Atlanta

Després N, Ménard HA, Boire G (1990a) Characterization of two new antigen-antibody systems (Sa/Ta) in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 33:S96 (Résumé)

Després N, Boire G, Ménard HA (1990b) Sa, Ta and RA33 are unrelated autoantigens specific for rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 33:S107 (Résumé)

Dighiero G, Guilbert B, Avrameas S (1982) Naturally occurring antibodies against nine common antigens in humans sera: II. High incidence of monoclonal Ig exhibiting antibody activity against actin and tubulin and sharing antibody specificities with natural antibodies. *J Immunol* 128:2788-2792

Dougados M, van der Linden S, Juhlin R, Huitfeldt B, Amor B, Calin A, Cats A, Dijkmans B, Olivieri I, Pasero G, Veys E, Zeidler H, The European spondylarthropathy group. (1991) The European Spondylarthropathy study group preliminary criteria for the classification of spondylarthropathy. *Arthritis Rheum* 34:1218-1227

Dresner E, Trombly P (1959) The latex-fixation reaction in nonrheumatic diseases. *N Engl J Med* 261:981

Dunbar BS, Schwoedel ED (1990) Preparation of polyclonal antibodies. In: Deutscher MP (ed) *Method in enzymology. Guide to protein purification*. Academic Press Inc. , San Diego, pp 663-670

Erhardt CC, Mumford PA, Venables PJW, Maini RN (1989) Factors predicting poor life prognosis in rheumatoid arthritis: eight year prospective study. *Ann Rheum Dis* 48:7-13

Feigenbaum SL, Masi AT, Kaplan SB (1979) Prognosis in Rheumatoid Arthritis. *Am J Med* 66:377-384

Feinstein AR, Cicchetti DV (1990) High agreement but low Kappa:I The problems of two paradoxes. *J Clin Epidemiol* 43:543-549

Fleiss JL, Tytun A, Ury HK (1980) A simple approximation for calculating sample size for comparing independent proportions. *Biometrics* 36:343-346

Fleiss JL (1981) The Measurement of Interrater Agreement. In: *Statistical Methods in Rate and Proportions*. John Wiley and Sons, New York, pp 212-236

Fleming A, Crown JM, Corbett M (1976) Early rheumatoid disease. *Ann Rheum Dis* 35:357-360

Fletcher RH, Fletcher SW, Wagner EH (1988) Rare diseases. dans: *Clinical Epidemiology, the essentials*. Williams et Wilkins, Baltimore, pp 192-205

Fort JG, Cowchock FS, Abruzzo JL, Smith JB (1987) Anticardiolipin antibodies in patients with rheumatic disease. *Arthritis Rheum* 30:752-760

Garcia-de la Torre I, Miranda-Mendez L (1982) Studies of Antinuclear Antibodies in Rheumatoid Arthritis. *J Rheumatol* 9:603-606

Gelpi C, Algueró A, Angeles Martinez M, Vidal S, Juarez C, Rodriguez-Sanchez JL (1990) Identification of protein

components reactive with anti-PM/Scl autoantibodies. Clin exp Immunol 81:59-64

Goldenberg DL (1989) Bacterial Arthritis. In: Kelley WN, Harris Jr, E.D., Ruddy S, et al (eds) Textbook of Rheumatology. W.B. Saunders Company, Philadelphia, pp 1567-1585

Glantz SA (1987) Kaufman B, White B, White J (Eds) Primer of Biostatistics, McGraw-Hill Inc., New York

Gordon DA, Stein JL, Broder I (1973) The Extra-Articular Features of Rheumatoid Arthritis. Am J Med 54:445-452

Goulding NJ, Podgorski MR, Hall ND, Flower RJ, Browning JL, Pepinsky RB, Maddison PJ (1989) Autoantibodies to recombinant lipocortin-1 in rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. Ann Rheum Dis 48:843-850

Harris JR. ED, (1989) The clinical Features of Rheumatoid Arthritis. In: Kelley WN, Harris Jr, E.D., Ruddy S, et al (eds) Textbook of Rheumatology. W.B. Saunders, Philadelphia, pp 943-981

Henle G, Lennette ET, Alspaugh MA, Henle W (1979) Rheumatoid factor as a cause of positive reactions in tests for Eps-

tein-Barr virus-specific IgM antibodies. Clin exp Immunol
36:415-422

Hogart J (1977) Vocabulaire de la santé publique. Organisation
Mondiale de la Sante, Bureau régional de l'Europe, Copenhague, p
208

Howell DS, Malcolm JM, Pike H (1960) The FTI agglutinating
factors in the serum of patients with nonrheumatic diseases.
Am J Med 29:662

Hulley SB, Cummings SR (1988) Desiging a New Study: II Cross-
sectional and Case-control Studie et III Diagnostic tests.
dans:Designing Clinical Research. Williams and Wilkins,
Baltimore, pp 75-97

Hunder GG, McDuffie FC (1973) Hypocomplementemia in Rheumatoid
Arthritis. Am J Med 54:461-472

Isomaki H, Martio J, Sarna S, Kiviniemi P, Akimova T, Ieleva
L, Mylov N, Trofimova T (1984) Predicting the Outcome of
Rheumatoid Arthritis. Scand J Rheumatol 13:33-38

Janssens X, Veys E, Verbruggen G, Declercq L (1988) The diagnostic signifiacnce of the antiperinuclear factor for rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 15:1346-1350

Jenicek M, Cl  roux R (1985) De l'observation clinique au diagnostic. dans: *Epid  miologie clinique: clinim  trie*. Edisem Inc. St-Hyacinthe (Qu  bec), pp 112-117

Kaarala K (1985) Prognostic Factors and Diagnostic Criteria in Early Rheumatoid Arthritis. *Scan J Rheumatol* S57:5-54

Karlsson M, M  lleg  rd I, Stiernstedt G, Wretlind B (1989) Comparison of Western Blot and Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Diagnosis of Lyme Borreliosis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 8:871-877

Kellgren JH, Bier F (1956) Radiologics signs of rheumatoid arthritis:a study of observer differences in the reading of hand films. *Ann Rheum Dis* 15:55-60

Kirstein H, Mathiesen FK (1987) Anti-keratin antibodies in rheumatoid arthritis. Methods and clinical significance. *Scand J Rheumatol* 16:331-337

Kundel TG, Simon HJ, Fudenberg H (1958) Observations concerning positive serologic reactions for rheumatoid factor in certain patients with sarcoidosis and other hyperglobulinemia states. *Arthritis Rheum* 1:289

Laemmli UF (1970) Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature* 227:680-685

Lafyatis R, Flipo RM, Duquesnoy B, Capron A (1992) Antibodies in Rheumatoid Synovial Fluids bind to a Restricted Series of Protein Antigens in Rheumatoid Synovial Tissue. *Arthritis Rheum* 35:1016-1027

Landis JR, Koch GG (1977) The measurement of Observer Agreement for Categorical Data. *Biometrics* 33:159-174

Laurence JS (1977) *Rheumatism in Populations*. William Heineman LTD, London

Leigh JP, Fries JF (1991) Mortality Predictors Among 263 Patients with Rheumatoid Arthritis. *J Rheumatol* 18:1307-1312

Lerner MR, Steitz JA (1979) Antibodies to small nuclear RNAs complexed with proteins are produced by patients with systemic lupus erythematosus. Proc Natl Acad Sci USA 76:5495-5499

Linn JE, Hardin JG, Halla JT (1978) A controlled study of ANA + RF - arthritis. Arthritis Rheum 21:645-651

Linos A, Worthington JW, O'Fallon WM, Kurland L (1980) The epidemiology of rheumatoid arthritis in Rochester, Minnesota: A study of incidence, prevalence, and mortality. Am J Epidemiol 111:87-98

Lydyard P, Grossi C (1989) Cells involved in the immune response. In: Roitt IM, Brostoff J, Male DK (eds) Immunology. J.B. Lippincott co., Philadelphia, pp 2.1-2.17

Markenson JA (1991) Worldwide Trends in the Socioeconomic Impact and Long-term Prognosis of Rheumatoid Arthritis. Sem Arthritis Rheum 2 suppl 1:4-12

Marnell LL, Searles RP, Savage SM, Jaramillo Y, Sibbitt WL (1990) Anti-class II β -chain antibodies in the serum and synovial fluid of rheumatoid arthritis patients. Clin Immunol Immunopathol 55:263-272

Masi AT, Maldonado-Cocco JA, Kaplan SB, Feigenbaum SL, Chandler RW (1976) Prospective study of the Early Course of Rheumatoid Arthritis in Young Adults: Comparison of Patients With and Without Rheumatoid Factor Positivity at Entry and Identification of Variables Correlating With Outcome. *Sem Arthritis Rheum* 5:299-326

Masi AT, Rodnan GP, Medsger TA (1980) Preliminary criteria for the classification of systemic sclerosis (sclerodermia). *Arthritis Rheum* 23:581-590

Meenan R, Gertman PM, Mason JH (1980) Measuring Health Status in Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheum* 23:146-152

Menzel J, Steffen C, Kolarz G, Kojer M, Smolen J (1978) Demonstration of anticollagen antibodies in rheumatoid arthritis synovial fluids by C14-radioimmunoassay. *Arthritis Rheum* 21:243-248

Mittchell DM, Spitz PW, Young DY, Bloch D, McShane DJ, Fries JF (1986) Survival, Prognosis, and Causes of Death in Rheumatoid Arthritis. *Arthritis Rheum* 29:706-714

Mollenhauer J, von der Mark K, Burmester G, Glückert K, Lütjen-Drecoll E, Brune K (1988) Serum antibodies against

chondocyte cell surface proteins in osteoarthritis and rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 15:1811-1817

Montecucco C, Caporali R, Negri C, de Gennaro F, Cerino A, Bestagno M, Cobianchi F, Astaldi-Ricotti GCB (1990) Antibodies from patients with rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus recognize different epitopes of a single heterogenous nuclear RNP core protein. Possible Role of cross-reacting antikeratin antibodies. *Arthritis Rheum* 33:180-186

Morgan K, Clague RB, Collins I, Ayad S, Phinn SD, Holt PJL (1987) Incidence of antibodies to native and denatured cartilage collagens (types II, IX, XI) and to type I collagen in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 46:902-907

Ochi T, Yonemasu K, Ono K (1980) Immunochemical quantitation of complement components of C1q and C3 in sera and synovial fluids of patients with bone and joint diseases. *Ann Rheum Dis* 39:235-240

Osung OA, Chandra M, Holborow EJ (1982) Antibody to intermediate filaments of the cytoskeleton in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 41:69-73

Pérez-Maceda B, Barnabeu C, Lopez-Bote JP, Marquet A, Larraga V (1988) Autoantibodies from rheumatoid arthritis patients recognize antigens on the synoviocyte surface. Scand J Immunol 27:295-304

Pfeifle J, Anderer FA, Franke M (1986) Characterisation of nucleolar proteins as autoantigens using human autoimmune sera. Ann Rheum Dis 45:978-986

Pincus T, Callahan LF, Vaughn WK (1987) Questionnaire, Walking Time and Button Test Measures of Functional Capacity as Predictive Markers for Mortality in Rheumatoid Arthritis. J Rheumatol 14:240-251

Pincus T (1988) Is mortality increased in rheumatoid arthritis? J Musculoskel Med 5:27-37

Quismorio Jr,FP, Kaufman RL, Beardmore T, Mongan ES (1983) Reactivity of serum antibodies to the keratin layer of rat esophagus in patients with rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 26:494-499

Rasker JJ, Cosh JA (1989) Course and Prognosis of Early Rheumatoid Arthritis. Scan J Rheumatol 579:45-56

Roitt IM (1989) Autoimmunity and autoimmune disease. In: Roitt IM, Brostoff J, Male DK (eds) Immunology. J.B. Lippincott Co, Philadelphia, pp 23.1-23.12

Ropes MW, Bennett GA, Cobb S (1958) Revision of Diagnostic Criteria for Rheumatoid Arthritis. Bull Rheum Dis 9:175-176

Roudier J, Rhodes G, Petersen J, Vaughan JH, Carson DA (1988) The Epstein-Barr virus glycoprotein gp110, a molecular link between HLA DR4, HLA DR1 and rheumatoid arthritis. Scand J Immunol 27:367-371

Roudier J, Petersen J, Rhodes G, Luka J, Carson DA (1989) Susceptibility to rheumatoid arthritis maps to a T-cell epitope shared by the HLA-Dw4 DR β -1 chain and the Epstein-Barr virus glycoprotein gp110. Proc Natl Acad Sci USA 86:5104-5108

Ryckewaert A, Bardin T (1991) Polyarthrite rhumatoïde. In: Kahn MF, Meyer O, Peltier AP, et al (eds) Les maladies systémiques. Flammarion, Paris, pp 143-159

Sackett DL, (1991) Making a prognosis. In: Sackett DL, Haynes RB, Guyatt GH, et al (eds) Clinical Epidemiology. A basic science for clinical medicine. Little Brown and company, Boston, pp 173-185

Savage SM, Searles RP, Troup GM, Brozek CM (1987) anti-idiotypic antibodies to anti-DR in patients with rheumatoid arthritis. Clin Immunol Immunopathol 42:1883-194

Scott DL, Coulton BL, Symmons DPM, Popert AJ (1987) Longterm outcome of treating rheumatoid arthritis; results after 20 years. Lancet 1:1108-11

Senécal J-L, Ichiki S, Girard D, Raymond Y (1993) Autoantibodies to nuclear lamins and to intermediate filament proteins: Natural, pathologic or pathogenic? J Rheumatol 20:211-219

Sharp JT, Irvin WS, Tan EM, Gould RG, Holman H (1972) Mixed Connective Tissue Disease: An apparently distinct rheumatic disease syndrome associated with a specific antibody to extractable nuclear antigen (ENA). Am J Med 52:148-159

Sharp JT (1989) Radiologic assessment as an outcome measure in rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 32:221-229

Sherrer YS, Bloch DA, Mitchell DM, Fries JF (1986) The development of disability in rheumatoid arthritis. Arthritis Rheum 29:494-500

Shmerling RH, Delbanco TL (1992) How useful is the Rheumatoid Factor? Arch Intern Med 152:2417-2420

Sondag-Tschroots I, Aaij C, Smit J, Feltkamp T (1979) The Antiperinuclear factor. 1. The Diagnostic significance of the antiperinuclear factor for rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis 38:248-251

Spielberg I, Siltzbach LE, McEwen C (1969) The Arthritis of Sarcoidosis. Arthritis Rheum 12:126-137

Steinbröcker O, Traeger CH, Batterman RC (1949) Therapeutic criteria in rheumatoid arthritis. JAMA 140:659-662

Steiner G, Hartmuth K, Skriner K, Maurer-Fogy I, Sinski A, Thalmann E, Hassfeld W, Barta A, Smolen J (1992) Purification and partial sequencing of the nuclear autoantigen RA33 shows that it is indistinguishable from A2 protein of the heterogeneous nuclear ribonucleoprotein complex. J Clin Invest 90:1061-1066

Stuart JM, Huffstutter EH, Townes AS, Kang AH (1983) Incidence and specificity of antibodies to types I,II,III,IV, and V collagen in rheumatoid arthritis and other rheumatic diseases

as measured by I125-Radioimmunoassay. Arthritis Rheum
26:832-840

Suzuki H, Kamimura J, Takehika A, Kashiwagi H (1990) Demonstration of Neutralizing Autoantibodies against IL-1 α in Sera from Patients with Rheumatoid Arthritis. J Immunol 145:2140-2146

Symmons D.P.M. , Prior P, Scott DL, Brown R. , Hawkins CF (1986) Factors influencing mortality in rheumatoid arthritis. J Chron Dis 39:137-145

Tan EM, Cohen JF (1982) The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum 25:1271-1277

Teitsson I, Withrington RH, Seifert MH, Valdimarsson H (1984) prospective study of early rheumatoid arthritis. I. Prognostic value of IgA rheumatoid factor. Ann Rheum Dis 43:673-678

Towbin H, Staehelin T, Gordon J (1979) Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gel to nitrocellulose sheets : procedure and some applications. Proc Natl Acad Sci USA 76:4350-4354

Tretham DE, Dynesius RA, Rocklin Ross E, David John R (1978) Cellular sensitivity to collagen in rheumatoid arthritis. N Engl J Med 299:327-332

Tron F, Bach JF (1991) Concepts actuels de l'autoimmunité. In: Kahn MF, Meyer O, Peltier AP, et al (eds) Les maladies systémiques. Flammarion Médecine-Sciences, Paris, pp 29-39

Tsoulfa G, Rook GAW, van Embden GAW, Young DB, Mehlert A, Isenberg DA, Hay FC, Lydyard PM (1989) Raised serum IgG and IgA antibodies to mycobacterial agents in rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis 48:118-123

Turner M (1989) Molecules which recognize antigen. In: Roitt IM, Brostoff J, Male DK (eds) Immunology. J.B. Lippincott co., Philadelphia, pp 5.1-5.12

Uddin J, Kraus AS, Kelly HG (1970) Survivorship and Death in Rheumatoid Arthritis. Arthritis Rheum 13:125-130

van Der Heijde DMFM, van Riel PLCM, van Rijswijk MH, van de Putte LBA (1988) Influence of Prognostic Features on the Final Outcome in Rheumatoid Arthritis: A Review of the Literature. Sem Arthritis Rheum 17:284-292

van Der Heijde DMFM, van Riel PLCM, van Leeuwen MA, van't Hof MA, van Rijswijk MH, van de Putte LBA (1991) Older Versus Younger Onset Rheumatoid Arthritis: Results at Onset and After 2 Years of a Prospective Followup Study of Early Rheumatoid Arthritis. *J Rheumatol* 18:1285-1289

van Eden W, Thole JER, van der Zee R, Noordzij A, van Embden JDA, Hensen EJ, Cohen IR (1988) Cloning mycobacterial epitope recognized by T lymphocytes in adjuvant arthritis. *Nature* 331:171-173

Vandenbroucke JP, Hazevoet HM, Cats A (1984) Survival and Cause of Death in Rheumatoid Arthritis: A 25-Year Prospective followup. *J Rheumatol* 11:158-161

Venables P (1988) Epstein-Barr virus infection and autoimmunity in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 47:265-269

Venables PJW, Erhardt CC, Maini RN (1980) Antibodies to extractable nuclear antigens in rheumatoid arthritis: relationship to vasculitis and circulating immune complexes. Clin exp Immunol 39:146-153

Vincent C, Serre G, Lapeyre F, Fournié B, Ayrolles C, Fournié A, Soleilhavoup J-P (1989) High diagnostic value in rheumatoid arthritis of antibodies to the stratum corneum of rat oesophagus epithelium, so-called "anti-keratin antibodies". Ann Rheum Dis 48:712-722

Vitali C, European Community. (1993) Preliminary Criteria for the Classification of Sjögren Syndrome. Arthritis Rheum 36:340-347

Vivino FB, Maul Gerd G (1990) Histologic and electron microscopic characterization of the perinuclear factor antigen. Arthritis Rheum 33:960-969

Wallace SL, Robinson H, Masi AT (1977) Preliminary criteria for the classification of the acute arthritis of primary gout. Arthritis Rheum 20:895-900

Ward DJ, Johnson GD, Holborow EJ (1964) Antinuclear Factor in Rheumatoid Arthritis its Incidence and Clinical Significance. *Ann Rheum Dis* 23:306-310

Weisman M, Zvaifler NJ (1975) Cryoimmunoglobulinemia in Rheumatoid Arthritis. *J Clin Invest* 56:725-739

Wilske KR, Healey LA (1989) Remodeling the Pyramid-A Concept Whose Time Has Come. *J Rheumatol* 16:565-567

Withrington RH, Teitsson I, Valdimarsson H, Seifert MH (1984) Prospective study of early rheumatoid arthritis. II. Association of rheumatoid factor isotypes with fluctuations in disease activity. *Ann Rheum Dis* 43:679-685

Yelin E, Meenan R, Nevitt M, Epstein W (1980) Work Disability in Rheumatoid Arthritis: Effects of Disease, Social, and Work factors. *Ann Intern Med* 93:551-556

Young A, Jaraquemada D, Awad J, Festenstein H, Corbett M, Hay FC, Roitt IM (1984) Association of HLA-DR4/Dw4 and DR2/Dw2 with radiologic changes in a prospective study of patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 27:20-25

Young BJJ, Mallya RK, Leslie RDG, Clark CJM, Hamblin TJ (1979)
Anti-keratine antibodies in Rheumatoid Arthritis. Br Med J 14
July:97-99

ANNEXE A

No dossier	Nom	Date Naissance	Sexe	Date d'inclusion	TOTAL
164 885	Lequin, Herminada	30-09-1933	M	09-85	

Critères PR: raideur \pm arthrite 1 \pm arthrite 2 \pm symétrique \emptyset douleur \pm
FR \pm mucine \emptyset Rx \pm nodules \emptyset hist. nodule \emptyset hist. synov. \emptyset

Durée de la maladie: 87 (x0.78)
Niveau fonctionnel: 2
Grade radiologique: II

Critères LED: Papillon $_$ cutané $_$ photosensibilité $_$ aphtes $_$ arthrite \emptyset
sérologie $_$ rein $_$ séreuse $_$ hémato $_$ CNS $_$ FAN \pm

SS: Bouche \emptyset Biopsie: $_$ Scintigraphie: $_$
Oeil \emptyset Schirmer: $_$ Rose Bengale: $_$

Examen: thyroïde \emptyset
purpura ou vasculite \emptyset
rales pulmonaires \pm occasionnels
foie augmenté \emptyset cirrhose $_$ Echo $_$ Scinti $_$
rate augmentée \emptyset Echo $_$ Scinti $_$
neuropathie \emptyset

Laboratoire: FR titre 63 U/ml
FAN titre ND
C3 ND
C4 ND
Gammaglobuline ND
Hb 14.7
GB 8700
PMN 64%
Plaquettes 287 000
Protéinurie X
SGOT > 2 N \emptyset
CPK > N ND
EFR ND obstructif $_$ restrictif $_$

HLA-B27 \emptyset

Kit # 500
— cryo 2.5
— dsDNA 2.5 Δ
— Sm 0
— RNP 7
— autres 0
— SSA 0
— SSB 0
— blotting Ro $_$ ANA 1/40 faible
La $_$
Savoie $_$
Autre $_$

Traitement: 1er -OR IM 79-04 (durée 77-08) EFF $_$ INEFF X TOX 0
1er -Ridaura 8-83 (durée 8-85) EFF \pm INEFF $_$ TOX échappé d 2°
1er -D-Pen 79-08 (durée 79-08) EFF $_$ INEFF X TOX 0
1er -Plaquenil 79-08 (durée 8-85) EFF $_$ INEFF X TOX 0

Imunosuppresseurs: 0

Prednisone > 5 mg die 0 (durée $_$)
Autres: 0

1

2

3

4

5

6

7

8

9

10

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

26

27

28

29

30

31

32

33

34

35

36

37

38

39

40

41

42

43

44

45

46

47

48

49

50

51

52

53

54

55

56



nom: _____ no de dossier: _____

numero de sérum: _____ date de naissance: __, __, __

date du diagnostic: __, __, __, date du prél.: __, __, __

Sclérose systémique

A. Major criterion:

Proximal scleroderma: __

B. Minor criteria:

1. sclerodactyly: __

2. pitting scars or loss of substance from the finger pad: __

3. Bibasilar pulmonary fibrosis: __

1 major or 2 minors

Laboratoire:

FR: __

FAN: __

C 3: __

C 4: __

gamma: __

Hb: __ __ g/L

GB: _____

sed: __ mm/h

plts: _____

protéinurie: _____ g/L

EFR: obst. __ restrictif __

KIT:

cryo: __

dsDNA: __

Sm: __

RNP: __

autres: __

Traitement

Prednisone eff: __ ineff: __ tox: __

D-Pen eff: __ ineff: __ tox: __

Immunosupresseur _____

SSA: __

SSB: __

BLOT(Ta/anti-Ta): __

FORMULAIRE DE CONSENTEMENT

Ta/anti-Ta: Un nouveau système auto-immun lié à la polyarthrite rhumatoïde.

Nous avons récemment identifié à l'aide d'un test de laboratoire encore expérimental, un système immunologique (antigène/anticorps) dans le sang de patients souffrant de polyarthrite rhumatoïde et nous désirons savoir si ce système auto-immun se retrouve dans d'autres maladies rhumatismales et/ou autoimmunes.

Comme vous souffrez d'une maladie auto-immune et/ou rhumatismale qui peut présenter des ressemblances sur le plan clinique ou immunologique avec la polyarthrite rhumatoïde nous aimerions prélever un échantillon de 15 cc de votre sang afin de le tester pour la présence du système auto-immun Ta/anti-Ta. Ce prélèvement n'affectera en rien votre santé et il pourra se faire dans le cadre des investigations de laboratoire requises par votre médecin pour diagnostiquer ou traiter votre maladie. Votre sérum sera conservé congelé dans une banque de sérum et pourra servir à des études ultérieures.

Nous devons aussi avoir accès à votre dossier afin d'obtenir des données démographiques et cliniques nécessaires pour fins de publication. Nous vous garantissons la plus stricte confidentialité quant aux données compilées et aux résultats du test.

Déclaration du participant:

Je consens à participer à l'étude sus-mentionnée en comprenant les risques et conséquences associées à ma participation à l'étude.

Témoin

Patient

Médecin

date: ___/___/___
 j m a