

Comment j'explore... Revue des principaux auto-anticorps

How I explore... Review of principals antibodies

C. Le Goff (1), J.F. Kaux (2), J.P. Chapelle (1), L. Lutteri (1)

(1) *Service de Chimie Médicale, CHU Sart Tilman, Liège.*

(2) *Service de Médecine de l'Appareil Locomoteur, CHU Sart-Tilman, Liège.*

Résumé

Les maladies auto-immunes représentent la 3^{ème} cause de morbidité après les affections cardio-vasculaires et oncologiques; elles surviennent souvent chez des sujets jeunes. Leur présence n'est pas synonyme de maladie et doit être associée à des signes cliniques pour être pathologique. Toutefois, leur découverte peut nécessiter un complément d'investigations et, éventuellement, un suivi car certains auto-anticorps sont prédictifs de pathologies. Nous faisons un rappel des principaux auto-anticorps mis en évidence au laboratoire d'immunologie humorale et expliquons succinctement les techniques et règles INAMI s'y rapportant.

Summary

Auto-immune diseases represent the 3rd cause of morbidity after cardiovascular and oncologic diseases. They often occur in young subjects. Their presence is not synonymous of disease and must be associated to clinical signs to be pathological. However, their discovery can require a complement of investigations and the possibility of a follow-up because some auto-antibodies are predictive of disease. This paper is concerned with the main autoantibodies that can be picked out at the laboratory of immunology. Some technical explanations and INAMI rules are explained too.

Mots-Clés : Auto-anticorps ; pathologies auto-immunes ; immunologie humorale ; nomenclature

Keywords : Auto-antibodies ; auto-immune disease ; humoral immunology ; nomenclature

Introduction

Le but de notre article est de rappeler (liste non exhaustive) les principaux auto-anticorps (auto-Ac) recherchés au Laboratoire d'Immunologie Humorale du CHU de Liège.

Une maladie auto-immune est une maladie au cours de laquelle une réaction immunologique se produit contre les constituants de son propre corps et provoque un dommage structurel ou fonctionnel des tissus ou des organes. Les maladies auto-immunes peuvent atteindre tous les organes. Des facteurs génétiques, immunologiques, hormonaux et environnementaux (virus et bactéries) peuvent jouer un rôle dans l'apparition et le développement de ces pathologies auto-immunes. Leur prévalence est d'au moins 5% de la population et surviennent souvent chez des sujets jeunes (1, 2). De nombreuses recherches d'auto-Ac ont été développées et permettent de dépister les pathologies à un stade précoce (3).

L'apport essentiel du laboratoire d'immunologie en pratique médicale consiste à détecter les nombreux auto-Ac qui peuvent être présents au cours des maladies auto-immunes : auto-Ac antinucléaires (ANA), anti-tissus, anti-cytoplasme des polynucléaires (ANCA), anti-phospholipides et facteurs rhumatoïdes. Les complexes immuns circulants et le complément sérique y sont également étudiés. Il est important de souligner qu'il est impossible de séparer le laboratoire de son contexte clinique. La règle essentielle est en effet que ces tests n'ont aucune valeur de screening dans une population non sélectionnée.

Utilité diagnostique des auto-anticorps

Les auto-Ac dirigés contre les structures cellulaires sont des marqueurs immunologiques utiles dans le diagnostic et, parfois, le pronostic de certaines maladies auto-immunes, mais d'inégale spécificité. Vu la diversité des situations auxquelles ils peuvent correspondre, ils n'ont pour la plupart, pas de valeur diagnostique s'ils ne sont pas confrontés à la clinique. En effet, ils peuvent même être décelés chez le sujet normal, bien qu'à faible titre. Ils comprennent entre autres les ANA mais aussi les ANCA (4, 5).

Leur détection et leur caractérisation sont des étapes déterminantes devant toute manifestation clinique évoquant une maladie systémique. Cependant, il en existe trop pour qu'il soit possible d'explorer en routine tous les systèmes d'anticorps et d'antigènes nucléaires connus. Il faut donc concevoir une stratégie et une hiérarchie des examens de dépistage et d'identification à pratiquer (6). L'immunofluorescence (IF) indirecte en constitue la

première étape. Si un anticorps est dépisté, il est titré et son aspect en fluorescence décrit (7-9). L'aspect de la fluorescence est fortement évocateur pour certains anticorps (par exemple les anti-centromères) mais, le plus souvent, ne permet pas à lui seul de déterminer la spécificité des anticorps, qui devront être identifiés grâce à d'autres méthodes (Enzyme Linked Immuno Assay ou ELISA, Radio-Immuno Assay ou RIA, immunoblot...) (4, 10) (Tableau I).

Tableau I. Méthodes les plus utilisées pour la recherche des auto-anticorps.

	Immunofluorescence	Immunodiffusion	Elisa	Immunoblot
Antigènes	Antigènes natifs <i>in situ</i>	Antigènes solubles Extrait de tissus	Antigènes natifs ou recombinés	Antigènes dénaturés (linéarisés)
Principe	Fixation des anticorps sur les antigènes <i>in situ</i>	Précipitation en gel des anticorps avec les antigènes solubles	Réaction des anticorps avec des antigènes adsorbés sur une phase solide	Réaction des anticorps avec des antigènes séparés par électrophorèse
Spécificité	Test multispécifique	Multispécifique	Monospécifique	Monospécifique
Quantification	+	-	+++	-
Senbilité	++	+	+++	++
Equipement	++	+	++	+++
Durée	+	+++	+	++
Coût	++	+	+++	+++

Tableau II. Aide à l'interprétation des images en IF sur les cellules HeP-2

<ul style="list-style-type: none"> • Homogène → antigènes reconnus : dsDNA, histones, nucléosomes. • Moucheté → antigènes reconnus : Sm/RNP, SSA, SSB, dots nucléaires (5 à 10 ou 2 à 6), matrice nucléaire, Mi2/Ku, PCNA, centromères. • Nucléolaire → antigènes reconnus : Pm/Scl (homogène+noyau), nucléoline (homogène), RNA-Polymérase I (moucheté), NOR (granulaire + mitose (dots)), fibrillarine (clumpy), Scl70 (granulaire+noyau).

Cependant, une explication supplémentaire s'avère nécessaire pour interpréter les résultats en IF (8, 9). En effet, l'image obtenue va permettre de s'orienter vers le type d'antigène reconnu en observant l'image des cellules en repos mais aussi l'image des cellules en mitose. Les trois types principaux de fluorescence sont : l'aspect homogène, moucheté ou nucléolaire. Pour l'interprétation des résultats, un seuil de positivité est fixé à une dilution de 1/80. Le test ANA est considéré comme négatif si on n'observe pas d'image ou de fluorescence à un titre de 1/80 et positif si on observe une fluorescence spécifique avec une image clairement distincte (Tableau II) (1).

Chez de nombreux patients, des titres en ANA de l'ordre de 1/80 à 1/160 peuvent être rencontrés sans qu'aucune affection précise puisse leur être attachée avec certitude. De même de nombreuses pathologies non auto-immunes (virales, néoplasiques,...) peuvent s'accompagner d'ANA positifs, mais généralement à des taux peu élevés.

Les ANA constituent un groupe d'auto-Ac contre les constituants du noyau cellulaire (ADN natif ou dénaturé, désoxyribonucléoprotéines, histones, antigènes nucléaires solubles...). Cependant, seul un nombre très limité d'entre eux a une réelle valeur diagnostique et/ou pronostique ou encore un intérêt dans la prise en charge thérapeutique des patients.

Les ANCA réagissent avec le cytoplasme des polynucléaires neutrophiles. Ils sont recherchés en screening par IFI sur des granulocytes neutrophiles humains fixés à l'éthanol. Plusieurs aspects de fluorescence peuvent être observés dont deux sont essentiels : une fluorescence granulaire de l'ensemble du cytoplasme appelée cANCA et un marquage homogène condensé autour du noyau appelé pANCA. Les cANCA réagissent essentiellement avec

une enzyme présente dans les granules cytoplasmiques des neutrophiles, la protéinase 3 (PR3). Les pANCA réagissent surtout avec une autre enzyme de ces granules, la myéloperoxydase (MPO). Il est indispensable de caractériser les spécificités anti-PR3 et anti-MPO car elles sont les seules à être utiles pour l'étude des vascularites (1).

La classification des auto-Ac est résumée dans le Tableau III.

Tableau III. Principaux anticorps recherchés en pratique clinique au CHU de Liège (17-31)

	Maladies associées	Image sur Hep-2	Techniques de mise en évidence
DsDNA	Lupus érythémateux disséminé (LED) (70%)	Homogène	ELISA
Histones	LED Lupus induit par les drogues Sclérodermie Cirrhose biliaire primitive Maladies neurologiques Maladies infectieuses Polyarthrite Rhumatoïde (PR)	Homogène	ELISA
Nucléosomes	LED Sclérodermie Connectivites mixtes	Homogène	ELISA
Sm	LED (15%) Connectivites mixtes Sjögren Sclérodermie PR	Moucheté avec granulations irrégulières	ELISA ou DOT
RNP	Connectivite mixte (90%) LED (10%)	Moucheté avec granulations irrégulières	ELISA ou DOT
SSA	Syndrome de Gougerot-Sjögren (40-80%) LED (30-50%) PR (3-5%) Lupus néonatal (>90%)	Moucheté avec fines granulations (+ certains nucléoles positifs sur Hep-2)	ELISA ou DOT
SSB	Syndrome de Gougerot-Sjögren (70%) Lupus néonatal (75%) LED (20%)	Moucheté avec fluorescence intense et granulaire	ELISA ou DOT
PCNA	LED Lymphomes	Fluorescence mouchetée très irrégulière (pléomorphisme)	DOT
Scl 70	Sclérodermies (20-40%)	Nucléolaire moucheté ou homogène	ELISA ou DOT
PM/Scl	Polymyosite/Sclérodermie	Nucléolaire homogène	DOT
Centromère	Syndrome de Crest (90%) Sclérodermie Cirrhose biliaire primitive (10-20%)	23 ou 46 (ou multiples de 46) grains brillants + grains en forme d'échelle au niveau de la mitose	DOT
Nuclear Dots	Cirrhose biliaire primitive Hépatite chronique active	Rares à quelques points dans le noyau	
Membranaire	LED Sclérodermie PR	Fluorescence autour du noyau + mitose négative	
Périphérique	Hépatites LED	Fluorescence autour du noyau+ mitose positive	
Centrioles	Infections virales	Pôles du fuseau mitotique	

SUITE 1	Maladies associées	Image sur Hep-2	Techniques de mise en évidence
NUMA	Connectivites diverses	Fluorescence triangulaire du fuseau	
Midbody	Etats inflammatoires	Jonction entre cellules en télophase	
Chromosome passager protéine	Sclérodermie	Mitoses fluorescentes	
Ribosome	Néoplasies		ELISA ou DOT
JO1	LED avec symptômes neuropsychiatriques	Fines granulations très denses couvrant tout le cytoplasme	ELISA ou DOT
PL7	MCTD (Syndrome de Sharp) PR	Fines granulations entourant le noyau	DOT
PL12	PM	Fines granulations entourant le noyau	DOT
Appareil de Golgi	PM	Fines granulations entourant le noyau	
Vimentine	Connectivites diverses	Fines mouchetures fluorescentes et lamelles fluorescentes superposées à un pôle du noyau	
Lysosomes	Autres pathologies (virales, néoplasiques...).	Filaments autour du noyau	
ANCA	Connectivites diverses	Vacuoles fluorescentes	IFI
PR3	Vascularites	Cytoplasmique ou Périnucléaire	ELISA ou DOT
MPO	Recto-colite hémorragique	Cytoplasmique en éthanol et formaline	
Muscle lisse (actine)		Périnucléaire en éthanol	
Mitochondrie	Hépatite auto-immune de type I	Cytoplasmique en formaline	
LKM	Hépatite auto-immune de type I	Filaments (câbles) traversant les cellules donnant un aspect de «toile d'araignée»	Hep-2 + TISSUS (rein-estomac-foie) + DOT
Cytosol	Cirrhose biliaire primitive	Granulations très brillantes au niveau du cytoplasme	Hep-2 + TISSUS (rein-estomac-foie) + ELISA (M2)
Cellules pariétales (muqueuse gastrique)	Hépatite auto-immune type I		TISSUS (rein-estomac-foie) ou ELISA
Endomysium IgA	Cirrhose cryptogénique		TISSUS (rein-estomac-foie)
Gliadine IgA et IgG	Sclérodermie généralisée		TISSUS (œsophage de singe)
Reticuline IgA	Hépatite auto-immune de type II		ELISA
Transglutaminase IgA	Hépatite auto-immune de type II		TISSUS (rein de rat)
Membrane basale tabulaire	Gastrite chronique de type A		ELISA
Membrane basale glomérulaire	Anémie pernicieuse de Biermer		TISSUS (rein de singe)
	Maladie coeliaque		
	Maladie coeliaque		
	Maladie coeliaque		
	Néphrites interstitielles		
	Rejet de greffe		
	Accidents immunologiques dus à certains médicaments (methicilline)		
	Syndrome de Goodpasture		
	Glomérulonéphrites		

SUITE 2	Maladies associées	Image sur Hep-2	Techniques de mise en évidence
Kératine	Polyarthrite rhumatoïde (50%)		TISSUS (œsophage de rat)
CCP	Polyarthrite rhumatoïde (70%)		ELISA
Gangliosides	Polyneuropathies sensitives et motrices, Guillain Barré, Miller-Fisher,...		DOT
Neurones (Hu, Ri, Yo,...)	Syndrome paranéoplasique		TISSUS (cervelet de singe) + DOT
Cellules de Purkinje	Syndrome paranéoplasique		TISSUS (cervelet de singe) + DOT
Myéline	Neuropathie démyélinisante		TISSUS (nerf sciatique de singe)
Muscle strié	Myasthénie		TISSUS (cœur de singe)
Îlots de Langerhans	Diabète de type I insulino-dépendant		TISSUS (pancréas de singe)
Ovaire	Ménopause précoce, stérilité féminine		TISSUS (ovaire de singe)
Testicule	Stérilité masculine		TISSUS (testicules de singe)
Surrénale	Maladie d'Addison, polyendocrinopathies		TISSUS (glandes surrénales de singe)
Peau	Pemphigus, pemphigoïde bulleuse		TISSUS (œsophage de singe)
Canaux salivaires	Sjögren primaire (60%)		TISSUS (glandes salivaires de singe)
GAD 67 kd	Maladie de Stiff Man		DOT
Cochlée	Surdité, maladie de Ménière		DOT
ASCA	Maladie de Crohn		IFI (Levures)
Anti-pancréas exocrine	Maladie de Crohn		TISSUS (pancréas de singe)

N.B. : Les chiffres entre parenthèses correspondent aux sensibilités

Autres marqueurs en immunologie

Les facteurs rhumatoïdes (FR)

Il s'agit d'anticorps dirigés contre le fragment Fc des IgG. Le plus souvent, ces anticorps sont de type IgM, beaucoup plus rarement IgG ou IgA. Les tests classiques de mise en évidence de ces anticorps (réaction de Waaler-Rose et réaction au latex) ne permettent de détecter que les anticorps de type IgM (7). Auparavant, il s'agissait du marqueur biologique essentiel du diagnostic de la polyarthrite rhumatoïde. Cependant, actuellement les anticorps anti-kératine et anti-peptides cycliques citrullinés (CCP) présentent une meilleure spécificité (90-100%). En effet, beaucoup d'autres maladies systémiques peuvent s'accompagner d'une production de FR : le syndrome de Sjögren (75-95 %), le lupus érythémateux systémique (15-35 %), les polydermatomyosites (5-10 %), les connectivites (50-60 %) (7). Des FR élevés peuvent également être retrouvés au cours de certaines maladies infectieuses (25-50 % des endocardites bactériennes subaiguës, 20-75 % des hépatites B ou C, 20-90 % des maladies parasitaires) (7), mais aussi au cours des fibroses pulmonaires idiopathiques, des cirrhoses hépatiques, des hémopathies lymphoïdes et chez des sujets sains âgés (11, 12).

Les complexes immuns circulants

Les techniques de détection sont très nombreuses et les résultats apportés par ces diverses techniques sont discordants. On peut détecter des complexes immuns circulants au cours du lupus systémique, des vascularites, des cryoglobulinémies, de la polyarthrite rhumatoïde..., mais aussi au cours de nombreuses maladies infectieuses telles que les endocardites, la lèpre, les hépatites virales ou l'infection parasitaire (13).

Le complément sérique

L'activité fonctionnelle du système du complément peut être mesurée globalement par dosage de l'activité hémolytique totale (CH 50) ou de façon plus précise sur l'une des deux voies d'activation du complément, voie

classique ou voie alterne, par des méthodes immuno-chimiques qui permettent le dosage pondéral des différentes fractions (C3, C4 surtout).

Les hypocomplémentémies peuvent être secondaires à un défaut de synthèse (déficit congénital, insuffisance hépatocellulaire, dénutrition), à des pertes protidiques (syndrome néphrotique, brûlure étendue), ou à un excès de consommation, observé dans des affections telles que le lupus érythémateux systémique, les cryoglobulinémies mixtes, certaines vascularites, les glomérulonéphrites membranoprolifératives de type II, mais aussi de nombreuses maladies infectieuses, notamment endocardites, hépatites virales, chocs endotoxiques, septicémies à bacilles Gram négatif... Les hypercomplémentémies ne sont pas spécifiques et témoignent de l'existence d'un syndrome inflammatoire (7).

Autres tests utiles pour le diagnostic

D'autres tests de biologie clinique apparaissent être intéressants comme aide au diagnostic des maladies immunologiques comme la formule sanguine, la vitesse de sédimentation (VS), la C-réactive protéine (CRP) et pour les maladies spécifiques d'organes, les phosphatases alcalines (PAL), les transaminases et la créatinine. Sans oublier des tests généraux des immunodéficiences primaires (B et T) et des tests spécifiques en fonction du diagnostic présumé (14). Dans certains cas comme dans les arthralgies, il peut être intéressant d'exclure une origine infectieuse telle que maladie de Lyme, hépatite B, rubéole, parvovirus B19, syphilis secondaire...

La VS est largement utilisée dans le suivi de certaines maladies inflammatoires. Elle varie en fonction de la quantité de protéines de la réaction inflammatoire comme le fibrinogène ou les alpha 2-globulines présentes dans le sang.

La CRP fixe non seulement les polysaccharides des micro-organismes, mais également la phosphatidylcholine, les polyanions et des substances potentiellement toxiques qui se libèrent des tissus altérés. Elle initie l'adhésion aux cellules phagocytaires et active le système du complément. La CRP est une protéine de la phase aiguë qui augmente rapidement (6 à 10 heures) et fortement (jusqu'à 1000 fois) en cas d'inflammation. En raison de sa courte demi-vie (1 jour), elle diminue et se normalise rapidement après la disparition de l'inflammation. Ses principales indications sont : la détection d'une inflammation, le suivi de l'activité des affections inflammatoires, la détection et le suivi des infections bactériennes.

Les PAL sont des enzymes membranaires présentes dans presque tous les tissus. L'enzyme se retrouve dans le sang suite à la libération de fragments de membrane.

Les transaminases, l'aspartate-aminotransférase (TGO ou AST) et l'alanine-amino-transférase (TGP ou ALT) sont deux enzymes qui catalysent le transfert d'un groupe aminé. Elles se trouvent à des quantités élevées dans les hépatocytes, le cœur, le muscle squelettique, les reins, le pancréas et les globules rouges. Les concentrations sériques d'AST et d'ALT sont déterminées non seulement par la vitesse de libération des cellules, mais également par leur demi-vie.

La créatinine provient du métabolisme de la créatine du muscle squelettique, sa concentration sérique dépend de la masse musculaire. Lorsque la fonction rénale est défaillante, la concentration augmente en raison d'une moindre excrétion (15, 16).

Rappel INAMI (32)

Règle de cumul pour les auto-Ac :

- Le titrage des anticorps anti-tissulaires n'est possible que si la recherche est positive.
- Le titrage des anticorps anti-nucléaires ou anti-cytoplasmiques n'est possible que seulement si la recherche est positive.
- La caractérisation des anticorps anti-nucléaires ou anti-cytoplasmiques n'est possible que seulement si la recherche est positive.
- L'identification des anticorps anti-nucléaires ou anti-cytoplasmiques par immunoblotting n'est possible que seulement si la recherche est positive.

Selon les règles de l'INAMI, il est important de savoir que le nombre d'anticorps anti-tissus à caractériser est de maximum 4.

Pour les complexes immuns circulants, la règle de l'INAMI qui s'applique est de minimum et maximum 2.

Il est également important de rappeler que plusieurs analyses ne sont pas remboursées par l'INAMI telles que les anti-CCP, les anti-cochlées, les anti-GAD, les anti-gangliosides ainsi que les IgA salivaires. Elles sont à charge du patient.

Conclusion

Par cet article, nous avons essayé de faire un rappel théorique et pratique concernant les principaux anticorps mis en évidence au laboratoire d'immunologie humorale du CHU de Liège. La liste ainsi que les conditions de prélèvements et de conservation sont disponibles via les liens suivants:

<http://www.chuliege.be/biologieclinique/chapitre5/analyses1.html>

<http://www.chuliege.be/biologieclinique/chapitre4.html#pt4>.

Les auto-Ac sont une aide au diagnostic et au suivi des maladies auto-immunes mais on observe une diversité de la réponse anticorps au cours des maladies auto-immunes. Nous sommes face à un manque de connaissance des cibles antigéniques et à un problème de standardisation des techniques. Ces derniers points nous imposent une grande prudence pour l'interprétation d'un résultat hors du contexte clinique.

Bibliographie

1. Humbel RL.— Auto-Anticorps et maladies auto-immunes. 2^{ème} édition. Elsevier, Paris, 1997, 17-19.
2. Chyderiotis G, Ebel A, Oger L.— Diagnostic des maladies auto-immunes, Document Biomedical diagnostics, Paris. 2003.
3. Aerts M.— Maladies auto-immunes et dosages des anticorps. *Focus Diagnostica*, 2003, 11, 112-119.
4. Bayer PM, Fabian B, Hubl W.— Immunofluorescence assays (IFA) and enzyme-linked immunosorbent assays (ELISA) in autoimmune disease diagnostic-technique, benefits, limitations and applications. *Scand J Clin Lab Invest Suppl*, 2001, 235, 68-76.
5. Meyer O, Rouquette AM, Youinou P.— Autoanticorps marqueurs des maladies auto-immunes. BMD Editions, Paris. 1999, 71-89.
6. Kavanaugh A, Tomar R, Reveille J et al.— Guidelines for clinical use of the antinuclear antibody test and tests for specific autoantibodies to nuclear antigens. *Arch Pathol Lab Med*, 2000, 124, 71-81.
7. Chirazzi N, Reeves WH.— Textbook of the autoimmune diseases. Lippincott Williams & Wilkins, USA 2000.
8. Bradwell AR, Strokes RP, Meads GP.— Advanced atlas of autoantibody Patterns. Univ of Birmingham. 1999, 17-110.
9. Bradwell AR, Hushes RS, Harden EL.— Atlas of Hep-2 patterns. Univ of Birmingham. 1995, 39-117.
10. Gniewek RA, Stites DP, McHugh TM, et al.— Comparison of antinuclear antibody testing methods : immunofluorescence assays versus enzyme immunoassay. *Clin Diagn Lab Immunol*, 1997, 4, 185-188.
11. Matsos MP, Popo JE, Spencer-Green G.— ANA (anti-nuclear antibody) is correlated with FR (rheumatoid factor) in rheumatoid arthritis. *Inflammopharmacology*, 2004, 12, 229-231.
12. Sakakibara R, Hirano S, Asahina M, et al.— Primary Sjögren's syndrome presenting with generalized autonomic failure. *Eur J Neurol*, 2004, 11, 365.
13. Seelen MA, Trouw LA, Daha MR.— Diagnostic and prognostic significance of anti-Clq antibodies in systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2003. 16, 619-624.
14. Despont JP.— Guide des examens de laboratoire par pathologie. Unilabs, Genève, 2002, 258-305.
15. Despont JP.— Guide des examens de laboratoire par pathologie. Unilabs, Genève, 2002, 58-90.
16. Bossuyt X, Boeynaems J-M.— Repères en diagnostic de laboratoire. Garant, Louvain, 2001, 148-383.
17. COFER (Collège Français des Enseignants en Rhumatologie). *Rhumatologie*. Masson, Paris, 2002, 337-456.
18. Haynes BF, Fauci AS.— Pathologies du système immunitaire, du tissu conjonctif et des articulations, in Harrison TR. *Principes de médecine interne*. 16^{ème} édition, Flammarion Médecine-Sciences, Paris, 2006, 1907-2066.
19. COFER (Collège Français des Enseignants en Rhumatologie). *Rhumatologie*. Masson, Paris, 2002; 25-78.
20. Irvine S, Munro R, Porter D.— Early referral, diagnosis, and treatment of rheumatoid arthritis: evidence for changing medical practice. *Ann Rheum Dis*, 1999, 58, 510-513.
21. Dubucquoi S.— Intérêt des anticorps anti-peptide citrulliné pour le diagnostic précoce de la polyarthrite rhumatoïde. *RFL*, 2004.361,41-42.
22. Nicaise-Roland P, Delaunay C, Meyer O, et al.— Les anticorps antipeptides cycliques citrulinés : intérêt dans la polyarthrite rhumatoïde. *IBS*, 2003, 18, 41-45.
23. Bossuyt X, Frans J, Hendrickx A.— Detection of anti-SSA antibodies by indirect immunofluorescence. *Clinical Chemistry*, 2004, 50, 2361-2369.
24. Pradhan VD, Badakere SS, Bichile LS, et al.— Anti-neu-trophil cytoplasmic antibodies (ANCA) in systemic lupus erythematosus : prevalence, clinical associations and correlation with other autoantibodies. *J Assoc Physicians India*. 2004, 452, 533-537.
25. Main J, McKenzie H, Yeaman GR, et al.— Antibody to *Sac-charomyces cerevisiae* (bakers' yeast) in Crohn's disease. *BMJ*, 1988, 29, 297, 1105-1106.
26. André C.— Intolérance au gluten : données récentes sur les anticorps et la physiopathogénie. *RFL*, 2006, 384, 40 - 42.
27. Erlinger S.— La cirrhose biliaire primitive. Orphanet. 1998. <http://www.orpha.net/data/patho/FR/fr-cbp.pdf>

28. Johanet C, Ballot E.— Acquisitions récentes dans les marqueurs des maladies du foie et des voies biliaires. *RFL*, 2004, 361, 29-33.
29. Kallel Sellami M, Zitouni M, Zouiten F, et al.— Tuberculose, cirrhose biliaire primitive et autoimmunité (à propos d'un cas tunisien). *Bull Soc Pathol Exot*, 2001, 94, 330-331.
30. Chazouillères O.— Maladies auto-immunes des voies biliaires. *Gastroenterol Clin Biol*, 2001, 25, B113-B116.
31. Obermayer-Straub P, Strassburg CR Manns MP.— Autoimmune hepatitis. *J Hepatol*, 2000, 32, 181-197.
32. Briers E.— Nomenclature. *Focus Diagnostica*, 2005, 4.