

Explorations biologiques dans le cadre des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin

J. KIRCHGESNER¹, H. SOKOL¹

RÉSUMÉ

Les explorations biologiques sont actuellement utilisées à toutes les étapes de la prise en charge des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI). Le dosage d'anticorps, notamment des ASCA et pANCA, peut être une aide au diagnostic en cas de colite inclassée. L'utilisation de la CRP et de la calprotectine (ou de la lactoferrine) comme marqueurs respectifs d'inflammation systémique et d'inflammation muqueuse intestinale, a montré un intérêt dans le diagnostic différentiel entre une MICI et d'autres pathologies digestives non inflammatoires ; ces marqueurs peuvent également évaluer l'activité inflammatoire de la maladie en cas de suspicion de poussée ou de perte de réponse au traitement. Les taux résiduels d'anti-TNF et la recherche d'anticorps anti-drogue dans le sang permettent d'établir des algorithmes de décision pour la stratégie thérapeutique chez les patients en perte de réponse sous anti-TNF. L'utilisation de ces outils biologiques devrait prendre une place de plus en plus grande à l'avenir et devrait permettre d'améliorer la prise en charge des patients atteints de MICI.

MOTS-CLÉS : maladies inflammatoires chroniques de l'intestin, ASCA, ANCA, CRP, calprotectine, lactoferrine, anticorps anti-drogue.

I. - INTRODUCTION

La maladie de Crohn (MC) et la rectocolite hémorragique (RCH) sont des maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI) qui affectent exclusivement le côlon pour la RCH et l'ensemble du système digestif avec une prédominance iléo-cæcale pour la MC. Elles débutent chez le sujet jeune (pic de fréquence autour de 30 ans), et on peut estimer à partir des valeurs d'incidence (1) qu'elles touchent jusqu'à 200 000 personnes en France. Bien que leur pathogenèse ne soit pas parfaitement élucidée, il est considéré aujourd'hui que les MICI sont le résultat d'une réponse immunitaire intestinale inadaptée aux antigènes bactériens du microbiote intestinal chez des sujets génétiquement prédisposés et sous l'influence de facteurs environnementaux. L'histoire naturelle des MICI est composée de périodes de poussées entrecoupées de périodes de rémission de durée variable.

Un traitement immunosuppresseur (thiopurines, méthotrexate et/ou anti-TNF) est utilisé de plus en plus tôt et pour des périodes prolongées. Il est estimé qu'en France, plus de 50 % des patients atteints de MICI sont exposés ou ont été exposés aux thiopurines 5 ans après le diagnostic. Ce chiffre est de 10 à 15 % pour les anti-TNF.

Au-delà des examens biologiques usuels, que nous ne détaillerons pas ici, les explorations biologiques ont une place prépondérante à toutes les étapes de la prise en charge des MICI, du diagnostic jusqu'au suivi de l'efficacité des traitements.

¹ Service de Gastroentérologie et Nutrition, Hôpital Saint-Antoine, 184, rue du Faubourg Saint-Antoine, 75012 Paris, France.

II. - EXPLORATIONS BIOLOGIQUES À VISÉE DIAGNOSTIQUE

A) pANCA, anticorps anti-glycanes et anticorps anti-antigènes microbiens

De nombreux anticorps ont été associés aux MICI, mais les deux les plus étudiés sont les pANCA et les ASCA.

Les ANCA (*anti-neutrophil cytoplasmic antibodies*) sont classiquement associés aux vascularites des petits vaisseaux et sont recherchés par immunofluorescence indirecte sur les polynucléaires neutrophiles (PNN). Les pANCA (*perinuclear ANCA*) sont dirigés contre un déterminant cytoplasmique des PNN et se caractérisent par un marquage de type pé-rinucléaire très fin qui les distingue des ANCA associés aux vascularites. Ils sont retrouvés chez 41 à 73 % des patients avec RCH, 6 à 38 % des patients avec MC et chez jusqu'à 8 % des sujets sains (2).

Les ASCA (*anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies*) sont dirigés contre un phosphopeptidomannane (appelé communément mannane) de la paroi d'une levure : *Saccharomyces cerevisiae* (SC). Ils font partie du groupe des anticorps anti-glycanes, qui reconnaissent des déterminants antigéniques membranaires trouvés dans le microbiote comme les parasites, les levures et les bactéries. La recherche d'ASCA, d'isotype IgG ou IgA, est réalisée soit par immunofluorescence indirecte à l'aide de frottis fixés de SC, soit par ELISA en utilisant comme antigènes des mannanes extraits de cultures de SC ou purifiés à partir de la paroi de la levure (2-6). Les ASCA sont retrouvés chez 29 à 69 % des patients avec MC, jusqu'à 29 % des patients avec RCH et chez 16 % des sujets sains (2). D'autres anticorps anti-glycanes détectés en ELISA et associés aux MICI ont été plus récemment identifiés, tels que les anticorps anti-laminaribioside carbohy-drate (*anti-laminaribioside carbohy-drate antibody*, ALCA) de type IgG, les anticorps anti-chitobioside carbohy-drate (*anti-chitobioside carbohy-drate antibody*, ACCA) de type IgA, les anticorps anti-mannoside synthétique (*antisynthetic mannoside antibody*, AΣMA ou AMCA) (7), les anticorps anti-laminarine carbohy-drate (anti-L), et les anticorps anti-chitine carbohy-drate (anti-C) (8). Ces anticorps ont une spécificité similaire aux ASCA pour le diagnostic de MC, mais une sensibilité moindre. Un autre groupe d'anticorps, les anticorps anti-antigènes microbiens (anticorps anti-porine OmpC de *Echerichia coli*, anticorps anti-séquence I2 de *Pseudomonas fluorescens*, anticorps anti-flagelline CBir1, anticorps anti-flagelline A4-Fla2 et Fla-X), ont été également associés à la MC (9-12). Les anticorps anti-pancréas exocrine (*pancreatic autoantibodies*, PAB) et les anticorps anti-cellule caliciforme (*goblet cell autoantibody*, GAB) ont également été étudiés (13-15).

Cependant, ces anticorps sont tous retrouvés dans d'autres pathologies, expliquant leur faible spécificité pour le diagnostic de RCH ou de MC. Ainsi, les pANCA sont retrouvés dans 10 % des cas de colite collagène et de colite à éosinophiles. Quant aux ASCA, ils sont présents dans près de 50 % des cas de maladie de Behçet, dans 22 % des cirrhoses biliaires primitives, 19 % des hépatites auto-

immunes et 43 % des maladies coeliaques. Ces anticorps ne sont donc pas utilisés pour le diagnostic de MICI par rapport à d'autres pathologies digestives, le diagnostic positif de RCH ou MC reposant essentiellement sur des arguments cliniques, endoscopiques, radiologiques (pour l'intestin grêle) et histologiques.

Par ailleurs, malgré ces outils, le diagnostic de MC ou de RCH ne peut être porté au début de la maladie chez 5 à 15 % des patients avec MICI affectant le côlon, aboutissant alors au diagnostic de colite inclassée (*inflammatory bowel disease unclassified*, IBD-U), anciennement colite indéterminée. Ce diagnostic est le plus souvent temporaire, puisqu'environ 80 % des patients seront reclassés en RCH ou en MC durant leur suivi.

La différenciation entre MC et RCH pouvant avoir une influence sur la prise en charge thérapeutique, il est important d'obtenir un diagnostic précis le plus tôt possible. La plupart des études ayant évalué l'intérêt diagnostique des marqueurs sérologiques pour la distinction entre MC et RCH sont basées sur l'association ASCA/pANCA, tandis que peu de données sont disponibles concernant les autres anticorps anti-glycanes et les anticorps anti-antigènes microbiens. Le **tableau I** résume les caractéristiques diagnostiques des principaux anticorps, de façon individuelle ou combinée, pour le diagnostic de RCH et de MC. Le profil ASCA+/pANCA- augmente la spécificité et la valeur prédictive positive en faveur du diagnostic de MC par rapport au profil ASCA+ isolé, tandis que l'association pANCA+/ASCA- augmente la spécificité et la valeur prédictive positive en faveur du diagnostic de RCH. Le profil ASCA-/pANCA- est associé au diagnostic de colite inclassée ; dans une étude prospective incluant 97 patients avec colite inclassée, ce profil était retrouvé chez 50 % des patients, dont 85 % gardaient le diagnostic de colite inclassée à 6 ans de suivi (16). Pour certains auteurs, cela suggère que la colite inclassée est une entité clinique à part entière.

La valeur pronostique des anticorps dans l'évolution de la maladie a également été étudiée. Dans la plupart des études, la présence d'ASCA chez les patients avec MC est reliée à une évolution compliquée, définie par un phénotype « sténosant » ou « pénétrant » (apparition de fistules ou d'abcès). Une méta-analyse d'études cas-témoins et de cohortes confirme que la présence d'ASCA est un facteur de risque d'évolution compliquée (odds ratio [OR] = 2,11 ; intervalle de confiance [IC] 95 % = 1,81 - 2,46), d'apparition de lésions ano-périnéales (OR = 1,6 ; IC 95 % = 1,34 - 2,04), et d'intervention chirurgicale (OR = 1,64 ; IC 95 % = 1,37 - 1,95) (17). Dans une cohorte pédiatrique de 196 enfants avec un suivi moyen de 18 mois, la présence d'anticorps anti-OmpC était significativement associée à une évolution compliquée (18). En cas de RCH, la présence de pANCA ne paraît pas associée à l'étendue de la maladie, mais a été retrouvée comme facteur de risque de « pochite » chronique (inflammation du réservoir iléal après colo-proctectomie totale et anastomose iléo-anales) (OR = 1,76 ; IC 95 % = 1,19 - 2,61) dans une méta-analyse regroupant 151 patients (19).

Tableau I - Caractéristiques diagnostiques des anticorps pour le diagnostic de maladie de Crohn et de rectocolite hémorragique (2-7, 13-16).

	Sensibilité (%)	Spécificité (%)	VPP (%)	VPN (%)
Diagnostic de maladie de Crohn versus rectocolite hémorragique				
ASCA+	37-72	82-100	87-95	36-68
pANCA-	52	91	85	65
ASCA+/pANCA-	46-64	92-99	86-97	44-82
Anti-OmpC	29	81	83	25
ACCA	9-21	84-97	78-87	24-52
ALCA	15-26	92-96	78-90	25-53
AMCA	12-28	82-97	65-92	25-52
Anti-C	10-25	90-98	87-88	29-39
Anti-L	18-26	93-97	90-91	30-40
Diagnostic de rectocolite hémorragique versus maladie de Crohn				
pANCA+	50-71	75-98	74-95	49-84
pANCA+/ASCA-	42-58	81-100	93-100	43

VPP : valeur prédictive positive ; VPN : valeur prédictive négative.

De plus, une étude récente suggère que la présence d'anticorps précéderait le diagnostic de MICI et serait prédictive de la survenue de la maladie chez des sujets asymptomatiques. Dans la cohorte EPIC (*European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition*), 39 % des patients avec MC et 35 % des patients avec RCH avaient au moins un anticorps positif parmi le panel testé (pANCA, ASCA, anti-CBir1 et anti-OmpC), précédant le diagnostic d'un intervalle moyen de 4,5 et 4,4 ans, respectivement (20). Cependant, il n'existe à ce jour aucune donnée montrant qu'une stratégie thérapeutique basée sur l'utilisation de ces anticorps comme facteurs pronostiques modifie l'histoire clinique des patients.

Le consensus européen sur la prise en charge des MICI (21, 22) ne recommande pas à l'heure actuelle l'utilisation des anticorps associés à ces maladies, que ce soit pour différencier une RCH d'une MC ou pour l'évaluation pronostique initiale au moment du diagnostic. En pratique, la recherche combinée d'anticorps ASCA et pANCA peut, dans certains cas, être une aide au diagnostic en présence d'une colite inclassée. Le développement et la recherche d'anticorps associés aux MICI permettent également une meilleure compréhension physiopathologique de ces maladies.

Par ailleurs, en cas de dénutrition ou d'argument clinique en faveur d'une malabsorption intestinale, il convient de réaliser un bilan nutritionnel à la recherche de carences, comprenant au minimum un bilan martial, un dosage des folates, de la vitamine B12 et des vitamines

D. Une hyperhomocystéinémie doit être recherchée en cas de carences en folates et/ou de vitamine B12, particulièrement chez les patients ayant un antécédent de résection intestinale étendue, une hyperhomocystéinémie étant associée à une augmentation du risque thrombo-embolique.

B) Explorations biologiques reliées à l'inflammation

1) CRP

La CRP (*C-reactive protein*) est une protéine produite par le foie en réponse à une inflammation systémique aiguë ou chronique, principalement après stimulation par l'interleukine 6 (IL-6). Elle apparaît 6 heures après le début de l'inflammation et sa demi-vie est de 19 heures. En cas de poussée de MICI, le taux de CRP peut varier selon la sévérité de la maladie, mais cette augmentation n'est pas spécifique et peut être associée à une infection digestive virale ou bactérienne. Par ailleurs, il existe une hétérogénéité des taux de CRP chez les patients atteints de MICI, potentiellement liée à la profondeur de l'inflammation et à la différence de production d'IL-6 (23). Une étude prospective évaluant la présence de lésions endoscopiques chez les patients cliniquement symptomatiques (*Crohn's Disease Activity Index* [CDAI] > 150) associées à un taux de CRP < 5 mg/L, retrouvait des lésions mineures chez la majorité des patients, mais plus d'un tiers avait des lésions endoscopiques significatives (*Crohn's Disease Endoscopic Index of Severity* [DEIS] > 6), expliquant la symptomatologie clinique (24). Dans l'évaluation de la réponse au traitement, il a également été montré qu'une augmentation

persistante de la CRP sous anti-TNF était associée à un échec secondaire du traitement (25). L'intérêt du dosage de la CRP est aussi démontré dans la prise en charge de la colite aiguë sévère. En effet, un taux de CRP > 45 mg/l associé à la persistance de 3 à 8 évacuations sanglantes quotidiennes le 3^{ème} jour de corticothérapie intra-veineuse permet de prédire le risque de colectomie chez l'adulte, avec une valeur prédictive positive de 85 % (26).

Au final, la CRP est utilisée en pratique courante comme un des marqueurs de sévérité lors d'une poussée et permet le suivi de la maladie chez les patients pour lesquels elle est reconnue comme informative.

2) Calprotectine et lactoferrine

La calprotectine est un hétérodimère ou hétérotrimère combinant les protéines S100A8 et S100A9. Elle est présente dans le cytoplasme des PNN et des cellules mononucléées, représentant environ 60 % des protéines solubles. La lactoferrine est une protéine de 80 kDa contenue dans les granules spécifiques secondaires des PNN. Ces deux protéines sont libérées dans la lumière intestinale en cas de stimulation, de rupture membranaire ou de mort cellulaire des PNN, leur présence dans les selles étant alors un marqueur non spécifique d'inflammation muqueuse. La calprotectine et la lactoferrine ont toutes les deux des propriétés antimicrobiennes et sont résistantes à la protéolyse bactérienne. Leur stabilité dans les selles est établie jusqu'à une semaine à température ambiante et plusieurs mois en cas de congélation à -20 °C (27), permettant un recueil de selles au domicile puis une mesure par ELISA (28).

L'intérêt du dosage de la calprotectine fécale pour le diagnostic de MICI a été évalué dans plusieurs études. Une méta-analyse à partir d'essais prospectifs sur un total de 1 207 patients (663 MC, 361 RCH et 183 MICI sans précision) a retrouvé une sensibilité de 89 % et une spécificité de 81 % (29). Ces valeurs sont similaires pour la lactoferrine (30). L'intérêt principal du dosage fécal de ces protéines à l'heure actuelle est dans la confirmation d'une activité inflammatoire liée à la maladie. En effet, près de 50 % des patients avec MICI présentent de façon associée des troubles fonctionnels intestinaux (TFI), et il existe un risque de sur-traitement si les symptômes liés aux TFI sont attribués à la maladie inflammatoire. Seul l'examen endoscopique peut, à l'heure actuelle, formellement distinguer une maladie inflammatoire d'une maladie fonctionnelle.

La plupart des études évaluant l'intérêt des marqueurs fécaux dans cette situation ont été réalisées sur la calprotectine. La sensibilité de la calprotectine afin d'évaluer la présence d'une inflammation muqueuse liée à la MICI varie entre 70 et 100 %, avec une spécificité de 44 à 100 % (31) selon les seuils utilisés. Dans une analyse « poolée » (32), l'association d'une CRP < 5 mg/l et d'une calprotectine fécale < 200 µg/g chez des patients cliniquement symptomatiques (CDAI > 220) permettait de prédire l'absence de lésions endoscopiques significatives (CDEIS ≤ 6), avec une sensibilité de 83 % et une spécificité de 71 % ; 40 à

50 coloscopies auraient alors pu être évitées. Chez les patients en rémission clinique (CDAI < 150), l'association d'une CRP < 10 mg/l et d'une calprotectine fécale < 200 µg/g prédisait la cicatrisation muqueuse (CDEIS ≤ 3), avec une sensibilité de 78 % et une spécificité de 58 % ; 30 à 40 coloscopies auraient pu être évitées dans cette situation.

De nombreuses études ont également évalué l'intérêt de la calprotectine fécale dans l'évaluation de la réponse au traitement, que ce soit avec l'infliximab ou l'adalimumab, retrouvant pour toutes une diminution significative de ce marqueur après traitement. Cependant, ces marqueurs fécaux ne permettent pas de distinguer l'inflammation muqueuse liée à la MICI d'une inflammation liée à une autre pathologie digestive telle qu'une infection. Les autres limites à leur utilisation sont une sensibilité inférieure en cas d'atteinte iléale isolée, la nécessité de répéter les tests du fait de variations intra-individuelles au cours du temps (29), et l'absence de seuil consensuel.

Le consensus européen sur la prise en charge de la MC, réactualisé en 2014, considère que les marqueurs fécaux d'inflammation intestinale comme la calprotectine ou la lactoferrine peuvent être utilisés pour guider le traitement, le suivi à court terme et prédire la rechute clinique, et que la calprotectine fécale peut aider à différencier la MC du syndrome de l'intestin irritable. En pratique, en 2014, la recherche de calprotectine fécale ne fait pas l'objet d'un remboursement par la sécurité sociale.

C) Bilan infectieux à réaliser en cas de poussée

Une infection digestive peut mimer une poussée de la maladie ou être en soi un facteur de déclenchement d'une authentique poussée.

Dix pour cent des patients avec MICI colique sont porteurs chroniques de *Clostridium difficile*, indépendamment de la prise d'antibiotiques. En cas de symptômes relatifs à une poussée, il convient d'éliminer une infection digestive par une coproculture, associée à une recherche de *C. difficile* et de ses toxines.

Bien que cela reste discuté, une surinfection colique à cytomégalovirus (CMV) peut également aggraver une poussée ou jouer un rôle dans l'échec du traitement. Le diagnostic est typiquement réalisé à partir des biopsies coliques par la recherche d'un effet cytopathogène et d'inclusion virales, potentiellement complétée par une immunohistochimie ou une PCR CMV (33). Une PCR CMV sanguine peut également être réalisée, sa valeur étant fortement corrélée aux lésions histologiques. Toutefois, une étude cas-témoins récente comprenant plus de 50 % de cas de colite aiguë sévère n'a pas retrouvé de différence en termes de colectomie et de baisse du taux de CRP à 10 jours, entre les patients en poussée avec réactivation CMV (diagnostiquée par PCR CMV à partir du sang ou des biopsies) traitée ou non par antiviraux (34). En pratique, la PCR CMV sur le sang est à réaliser systématiquement en cas de poussée sévère réfractaire au traitement et à discuter d'emblée en cas de poussée sévère.

Tableau II - Bilan biologique à visée infectieuse à réaliser au diagnostic ou avant introduction d'un traitement immunosuppresseur. D'après les recommandations européennes ECCO (35).

Tuberculose (spécifique aux anti-TNF)	Test Quantiféron (ou IDR à la tuberculine)
VIH	Sérologie VIH
Hépatite B et C	Sérologie VHB et VHC
CMV et EBV	Sérologie CMV et EBV avant introduction, PCR EBV en cas de suspicion de réactivation sévère avec ou sans HLH PCR CMV en cas de poussée sévère ou si réfractaire au traitement
Varicelle	Sérologie VZV en l'absence d'antécédent de varicelle clinique typique*
Anguillulose	Sérologie de l'anguillulose en cas de séjour prolongé (> 1 mois) en zone d'endémie**
En présence de signes cliniques en faveur d'une infection aiguë	Prélèvement bactériologique selon le site infectieux (contre-indication temporaire à l'introduction du traitement en l'absence de contrôle de l'infection)

* Facultatif, non remboursé, sinon vacciner directement.

** Facultatif, non remboursé, sinon combiner examen parasitologique des selles et biopsies duodénales.

IDR : intradermo-réaction ; HLH : lymphohistiocytose hémophagocytaire (*hemophagocytic lymphohistiocytosis*).

III. - EXAMENS BIOLOGIQUES LIÉS AUX TRAITEMENTS IMMUNOSUPPESSEURS

A) 5-amino salicylés

Les 5-amino salicylés (5-ASA) ne constituent pas un traitement immunosuppresseur, mais nous rappellerons néanmoins qu'il est conseillé de réaliser une surveillance biannuelle de la fonction rénale devant le risque faible mais réel de néphropathie interstitielle. Par ailleurs, de très rares cas d'hépatites aiguës sévères cyto-lytiques ont été décrits chez des patients sous sulfasalazine, un hétérodimère de 5-ASA associé à un dérivé de sulfamide (sulfapyridine), en rapport avec des mécanismes immuno-allergiques induits par le composant sulfapyridine.

B) Sérologies infectieuses

Il n'y a pas de surmortalité globale par infection sous immunosuppresseurs dans la sous-population des patients atteints de MICI. En revanche, il a été rapporté chez les patients sous immunosuppresseurs (particulièrement les thiopurines), quel que soit leur âge, un risque spécifique de développer une forme mortelle de varicelle et de mononucléose infectieuse, ainsi qu'une réactivation d'infection chronique latente par le CMV ou l'Epstein-Barr virus (EBV), avec ou sans syndrome d'activation macrophagique (lymphohistiocytose hémophagocytaire). Un traitement par anti-TNF est associé à un risque de tuberculose, potentiellement disséminée, notamment en cas d'infection tuberculeuse latente. Il existe également un risque de réactivation d'hépatite virale, principalement lié au virus de l'hépatite B (VHB), quel que soit le type d'immunosuppresseur. Il est donc nécessaire de réaliser un bilan

pré-thérapeutique spécifique, de préférence dès le diagnostic ou avant l'introduction d'un traitement immunosuppresseur, selon les recommandations européennes récemment réactualisées (35) (Tableau II).

C) Thiopurines

La famille des thiopurines est composée de deux molécules : la 6-mercaptopurine (6-MP) et sa prodrogue, l'azathioprine. La 6-MP peut être métabolisée selon trois voies : i) conversion en acide 6-thiourique par la xanthine oxydase (XO) ; ii) méthylation en 6-méthylmercaptopurine (6-MMP) par la thiopurine méthyltransférase (TPMT) ; iii) conversion en thioinosine monophosphate (TIMP) par l'hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransférase (HGPR) (36). Le TIMP est secondairement converti en 6-thioguanine nucléotides (6-TGN), considérés comme les métabolites actifs et responsables de la myélotoxicité.

En cas de déficit d'activité de la TPMT (prévalence de 10 % pour le déficit partiel et de 0,3 % pour le déficit complet), le métabolisme est dévié vers la production de 6-TGN. Il existe alors un risque de neutropénie sévère, responsable d'une mortalité associée évaluée à 1/10 000 patients-années (37). Avant introduction du traitement, il est possible de réaliser un génotypage et/ou un test d'activité de la TPMT, un traitement par thiopurines devenant généralement contre-indiqué en cas de déficit complet. Toutefois, seules les mutations les plus fréquentes sont recherchées et des mutations rares peuvent ne pas être détectées.

Le taux de 6-TGN peut également être mesuré en cas d'échec ou de réponse initiale incomplète au traitement,

ce taux pouvant être en dehors de la fourchette thérapeutique malgré une posologie optimale chez les patients à haute activité de TPMT ou non compliant. Une méta-analyse récente retrouve une corrélation entre une concentration en 6-TGN $> 230-260$ pmol / 8×10^8 érythrocytes et la rémission clinique (OR = 3,15 ; IC 95 % = 2,41 - 4,11) (38). Mais deux essais randomisés évaluant l'efficacité des thiopurines selon une posologie adaptée au taux de 6-TGN comparée au poids n'ont pas retrouvé de différence significative, dont le dernier récemment publié et arrêté précocement par défaut d'inclusion (39). Le dosage de la TPMT et des 6-TGN ne fait pas l'objet de recommandations consensuelles et peut être utilisé selon les pratiques et l'accessibilité de ces analyses. Une surveillance mensuelle de la numération sanguine pendant les 3 premiers mois, puis trimestrielle, doit être maintenue pendant tout le traitement.

Les thiopurines sont également responsables dans 4 % des cas d'anomalies asymptomatiques du bilan hépatique (élévation des transaminases ou des phosphatases alcalines), apparaissant dans la moitié des cas les 3 premiers mois. Ce risque est principalement lié au 6-MMP (40). Il est recommandé de doser les enzymes hépatiques avant le traitement puis après son introduction de façon mensuelle pendant 3 mois, puis trimestrielle. Ces anomalies sont réversibles à l'arrêt du traitement. Devant toute perturbation chronique du bilan hépatique, des examens complémentaires doivent être réalisés, notamment à la recherche d'une hyperplasie nodulaire régénérative, associée à la prise de thiopurines, et d'une cholangite sclérosante primitive, associée aux MICI.

Une pancréatite aiguë d'origine immuno-allergique survient chez 4 % des patients (41), principalement dans les trois premiers mois après l'introduction des thiopurines. L'ensemble de la classe des thiopurines est alors définitivement contre-indiqué devant le risque de récurrence à la reprise. Une lipasémie doit donc être réalisée en cas de suspicion clinique de pancréatite aiguë chez un patient sous thiopurines depuis moins de 3 mois.

D) Méthotrexate

Le méthotrexate est un antimétabolite antagoniste de l'acide folique, qui est utilisé depuis de nombreuses années dans la prise en charge des MICI. Le risque de cytopénie, plus rare qu'avec les thiopurines, justifie une surveillance similaire de la formule sanguine. Les hépatites aiguës (surtout cytolytiques) sont rares. Des anomalies modérées et persistantes des tests hépatiques sont observées dans environ 5 % des cas. Il existe un risque d'hépatopathie chronique, comportant des lésions de stéatose, parfois une fibrose, voire une cirrhose, ce risque apparaissant pour des doses cumulées de plus de 2 g (42). La survenue d'une hépatopathie chronique est exceptionnelle en l'absence de facteurs de risque d'hépatopathie associés (alcool, obésité). Un bilan hépatique doit être réalisé selon la même fréquence qu'en cas de traitement par thiopurines.

E) Anti-TNF

Le TNF est une cytokine pro-inflammatoire sécrétée par les macrophages, les lymphocytes T et les cellules NK lors de la phase aiguë de l'inflammation. Il est impliqué dans la physiopathologie de nombreuses pathologies inflammatoires chroniques. En 2014, trois anti-TNF ont une autorisation de mise sur le marché (AMM) dans le traitement des MICI en France, deux pour la MC (influximab et adalimumab) et trois pour la RCH (influximab, adalimumab et golimumab, qui a obtenu l'AMM en 2014). L'influximab est un anticorps monoclonal IgG1k chimérique recombinant composé d'une chaîne constante humaine et de régions variables murines ; l'adalimumab et le golimumab sont des anticorps monoclonaux entièrement humanisés recombinants de type IgG1k.

Jusqu'à 30 % des patients ne répondent pas au traitement lors de la phase d'induction (non-répondeurs primaires) et il est admis qu'en cas de perte de réponse secondaire, le traitement peut être optimisé en doublant la posologie ou en réduisant les intervalles d'injection. Jusqu'à 45 % des patients ont un traitement optimisé après 1 an (43). Les causes d'échec ne sont pas clairement connues et des outils pharmacologiques pourraient être une aide à la décision thérapeutique. Les données pharmacologiques concernent principalement l'influximab et l'adalimumab. Les taux résiduels d'anti-TNF sont actuellement dosables selon plusieurs techniques : par ELISA, la plus courante, par radioimmunoassay (RIA), ou « *homogeneous mobility shift assay* » (HMSA). Toutes les études retrouvent une association entre le taux résiduel d'influximab et l'obtention d'une réponse clinique, le seuil discriminant variant selon les études de 2 à 3 $\mu\text{g}/\text{mL}$. La détection d'un taux résiduel d'influximab comparée à un taux indétectable est également associée à une CRP basse et à une diminution des lésions endoscopiques dans la MC (44), avec des résultats similaires dans la RCH (45), et à une diminution du taux de colectomie. Concernant l'adalimumab, une étude récente sur 40 patients retrouve un taux résiduel significativement plus élevé chez les patients en rémission clinique et ceux avec cicatrisation muqueuse (46).

Le développement d'une immunogénicité est un facteur important dans l'efficacité des anti-TNF et la survenue d'effets secondaires. En effet, la formation d'anticorps anti-drogues (anti-influximab, anti-adalimumab), réunis sous l'acronyme « ADA » (*anti-drugs antibodies*) pourrait expliquer l'absence ou la perte d'efficacité chez certains patients, en étant responsable d'une augmentation de clairance du médicament et d'une diminution du taux résiduel ; les ADA pourraient aussi être responsables de réactions d'hypersensibilité lors de la ré-administration du produit. Les ADA sont dosés selon les mêmes techniques que les taux résiduels. Il avait été supposé initialement que l'adalimumab, en tant qu'anticorps complètement humanisé, engendrerait moins d'immunogénicité, mais plusieurs études semblent retrouver un risque comparable

à l'infliximab (47). La formation d'ADA chez des patients avec MC a été évaluée de 12 à 70 % sous infliximab (8 études) et de 3 à 17 % sous adalimumab (4 études) (48).

Plusieurs algorithmes de décision prenant en compte la présence d'un taux résiduel et la présence d'ADA ont été proposés en cas de perte de réponse sous anti-TNF (49, 50). Le consensus de l'ECCO (*European Crohn's and Colitis Organisation*) de 2014 considère comme possible l'utilisation de la mesure des taux résiduels d'anti-TNF et des ADA pour guider la stratégie d'optimisation. La limite principale est l'accessibilité à ces dosages, qui ne sont pas encore réalisés en pratique courante mais qui pourraient le devenir au cours des prochaines années.

IV. - CONCLUSION

L'exploration biologique des MICI s'étend de l'aide au diagnostic jusqu'au monitoring des traitements, afin de modifier la stratégie thérapeutique. Dans certaines situations, elle permet d'éviter des explorations invasives comme l'endoscopie, notamment grâce aux marqueurs fécaux en cas de suspicion de poussée ou de perte de réponse au traitement. Le dosage des taux résiduels d'anti-TNF et des ADA en pratique courante devrait devenir un élément déterminant dans la stratégie thérapeutique chez un patient sous anti-TNF au cours des prochaines années. Le développement de ces explorations biologiques permettra d'ouvrir la voie à une médecine personnalisée dans la prise en charge des MICI.

Conflit d'intérêt : aucun.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- (1) Nerich V, Monnet E, Etienne A, Louafi S, Ramée C, Rican S, Weill A, Vallier N, Vanbockstael V, Auleley GR, *et al.* Geographical variations of inflammatory bowel disease in France: a study based on national health insurance data. *Inflamm Bowel Dis* 2006 ; **12** : 218-26.
- (2) Pridéaux L, De Cruz P, Ng SC, Kamm MA. Serological antibodies in inflammatory bowel disease: a systematic review. *Inflamm Bowel Dis* 2012 ; **18** : 1340-55.
- (3) Mokrowiecka A, Daniel P, Słomka M, Majak P, Malecka-Panas E. Clinical utility of serological markers in inflammatory bowel disease. *HepatoGastroenterology* 2009 ; **56** : 162-6.
- (4) Bossuyt X. Serologic markers in inflammatory bowel disease. *Clin Chem* 2006 ; **52** : 171-81.
- (5) Sandborn WJ. Serologic markers in inflammatory bowel disease: state of the art. *Rev Gastroenterol Disord* 2004 ; **4** : 167-74.
- (6) Desplat-Jégo S, Johanet C, Escande A, Goetz J, Fabien N, Olsson N, Ballot E, Sarles J, Baudon JJ, Grimaud JC, *et al.* Update on Anti-*Saccharomyces cerevisiae* antibodies, anti-nuclear associated anti-neutrophil antibodies and antibodies to exocrine pancreas detected by indirect immunofluorescence as biomarkers in chronic inflammatory bowel diseases: results of a multicenter study. *World J Gastroenterol* 2007 ; **13** : 2312-18.
- (7) Rieder F, Schleider S, Wolf A, Dirmeier A, Strauch U, Obermeier F, Lopez R, Spector L, Fire E, Yarden J, *et al.* Association of the novel serologic anti-glycan antibodies anti-laminarin and anti-chitin with complicated Crohn's disease behavior. *Inflamm Bowel Dis* 2010 ; **16** : 263-74.
- (8) Seow CH, Stempak JM, Xu W, Lan H, Griffiths AM, Greenberg GR, Steinhart AH, Dotan N, Silverberg MS. Novel anti-glycan antibodies related to inflammatory bowel disease diagnosis and phenotype. *Am J Gastroenterol* 2009 ; **104** : 1426-34.
- (9) Joossens S, Colombel JF, Landers C, Poulain D, Geboes K, Bossuyt X, Targan S, Rutgeerts P, Reinisch W. Anti-outer membrane of porin C and anti-I2 antibodies in indeterminate colitis. *Gut* 2006 ; **55** : 1667-9.
- (10) Wei B, Huang T, Dalwadi H, Sutton CL, Bruckner D, Braun J. *Pseudomonas fluorescens* encodes the Crohn's disease-associated I2 sequence and T-cell superantigen. *Infect Immun* 2002 ; **70** : 6567-75.
- (11) Landers CJ, Cohavy O, Misra R, Yang H, Lin YC, Braun J, Targan SR. Selected loss of tolerance evidenced by Crohn's disease-associated immune responses to auto- and microbial antigens. *Gastroenterology* 2002 ; **123** : 689-99.
- (12) Sutton CL, Kim J, Yamane A, Dalwadi H, Wei B, Landers C, Targan SR, Braun J. Identification of a novel bacterial sequence associated with Crohn's disease. *Gastroenterology* 2000 ; **119** : 23-31.
- (13) Lakatos PL, Altorjay I, Szamosi T, Palatka K, Vitalis Z, Tumpke J, Sipka S, Udvardy M, Dinya T, Lakatos L, *et al.* Pancreatic autoantibodies are associated with reactivity to microbial antibodies, penetrating disease behavior, perianal disease, and extraintestinal manifestations, but not with NOD2/CARD15 or TLR4 genotype in a Hungarian IBD cohort. *Inflamm Bowel Dis* 2009 ; **15** : 365-74.
- (14) Lawrance IC, Hall A, Leong R, Pearce C, Murray K. A comparative study of goblet cell and pancreatic exocine autoantibodies combined with ASCA and pANCA in Chinese and Caucasian patients with IBD. *Inflamm Bowel Dis* 2005 ; **11** : 890-7.
- (15) Kovacs M, Lakatos PL, Papp M, Jacobsen S, Nemes E, Polgar M, Solyom E, Bodi P, Horvath A, Muller KE, *et al.* Pancreatic autoantibodies and autoantibodies against goblet cells in pediatric patients with inflammatory bowel disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2012 ; **55** : 429-35.
- (16) Joossens S, Reinisch W, Vermeire S, Sendid B, Poulain D, Peeters M, Geboes K, Bossuyt X, Vandewalle P, Oberhuber G, *et al.* The value of serologic markers in indeterminate colitis: a prospective follow-up study. *Gastroenterology* 2002 ; **122** : 1242-7.
- (17) Zhang Z, Li C, Zhao X, Lv C, He Q, Lei S, Guo Y, Zhi F. Anti-*Saccharomyces cerevisiae* antibodies associate with phenotypes and higher risk for surgery in Crohn's disease: a meta-analysis. *Dig Dis Sci* 2012 ; **57** : 2944-54.
- (18) Dubinsky MC, Lin YC, Dutridge D, Picornell Y, Landers CJ, Farior S, Wrobel I, Quiros A, Vasiliauskas EA, Grill B, *et al.* Serum immune responses predict rapid disease progression among children with Crohn's disease: immune responses predict disease progression. *Am J Gastroenterol* 2006 ; **101** : 360-7.
- (19) Singh S, Sharma PK, Loftus EV, Pardi DS. Meta-analysis: serological markers and the risk of acute and chronic pouchitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2013 ; **37** : 867-75.
- (20) Van Schaik FD, Oldenburg B, Hart AR, Siersema PD, Lindgren S, Grip O, Teucher B, Kaaks R, Bergmann MM, Boeing H. Serological markers predict inflammatory bowel disease years before the diagnosis. *Gut* 2013 ; **62** : 683-8.
- (21) Dignass A, Eliakim R, Magro F, Maaser C, Chowers Y, Geboes K, Mantzaris G, Reinisch W, Colombel JF, Vermeire S, *et al.* Second European evidence-based consensus on the diagnosis and management of ulcerative colitis Part 1: Definitions and diagnosis. *J Crohns Colitis* 2012 ; **6** : 965-90.
- (22) Van Assche G, Dignass A, Panes J, Beaugerie L, Karagiannis J, Allez M, Ochskenkühn T, Orchard T, Rogler G, Louis E, *et al.* The second European evidence-based consensus on the diagnosis and management of Crohn's disease: definitions and diagnosis. *J Crohns Colitis* 2010 ; **4** : 7-27.
- (23) Gross V, Andus T, Caesar I, Roth M, Schölmerich J. Evidence for continuous stimulation of interleukin-6 production in Crohn's disease. *Gastroenterology* 1992 ; **102** : 514-9.

- (24) Denis MA, Reenaers C, Fontaine F, Belaçhe J, Louis E. Assessment of endoscopic activity index and biological inflammatory markers in clinically active Crohn's disease with normal C-reactive protein serum level. *Inflamm Bowel Dis* 2007 ; **13** : 1100-5.
- (25) Jürgens M, Mahachie John JM, Cleynen I, Schnitzler F, Fidler H, van Moerkercke W, Ballet V, Noman M, Hoffman I, van Assche G, *et al.* Levels of C-reactive protein are associated with response to infliximab therapy in patients with Crohn's disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2011 ; **9** : 421-7.e1.
- (26) Travis SP, Farrant JM, Ricketts C, Nolan DJ, Mortensen NM, Kettlewell MG, Jewell DP. Predicting outcome in severe ulcerative colitis. *Gut* 1996 ; **38** : 905-10.
- (27) Ayling RM. New faecal tests in gastroenterology. *Ann Clin Biochem* 2012 ; **49** : 44-54.
- (28) Hessels J, Douw G, Yildirim DD, Meerman G, van Herwaarden MA, van den Bergh FAJTM. Evaluation of Prevent ID and Quantum Blue rapid tests for fecal calprotectin. *Clin Chem Lab Med CCLM FESCC* 2012 ; **50** : 1079-82.
- (29) Von Roon AC, Karamountzos L, Purkayastha S, Reese GE, Darzi AW, Teare JP, Paraskeva P, Tekkis PP. Diagnostic precision of fecal calprotectin for inflammatory bowel disease and colorectal malignancy. *Am J Gastroenterol* 2007 ; **102** : 803-13.
- (30) Gisbert JP, Bermejo F, Pérez-Calle JL, Taxonera C, Vera I, McNicholl AG, Algaba A, López P, López-Palacios N, Calvo M, *et al.* Fecal calprotectin and lactoferrin for the prediction of inflammatory bowel disease relapse. *Inflamm Bowel Dis* 2009 ; **15** : 1190-8.
- (31) Lewis JD. The utility of biomarkers in the diagnosis and therapy of inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2011 ; **140** : 1817-26.e2.
- (32) Bondjemah V, Mary JY, Jones J, Sandborn W, Schoepfer A, Louis E, Sipponen T, Vieira A, Colombel JF, Allez M. P133 Fecal calprotectin and CRP as biomarkers of endoscopic activity in Crohn's disease: a meta-study. *J Crohns Colitis* 2012 ; **6** : S63.
- (33) Kandiel A, Lashner B. Cytomegalovirus colitis complicating inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 2006 ; **101** : 2857-65.
- (34) Delvincourt M, Lopez A, Pillet S, Bourrier A, Seksik P, Cosnes J, Carrat F, Gozlan J, Beaugerie L, Roblin X, *et al.* The impact of cytomegalovirus reactivation and its treatment on the course of inflammatory bowel disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2014 ; **39** : 712-20.
- (35) Rahier JF, Ben-Horin S, Chowers Y, Conlon C, de Munter P, D'Haens G, Domènech E, Eliakim R, Eser A, Frater J, *et al.* European evidence-based consensus on the prevention, diagnosis and management of opportunistic infections in inflammatory bowel disease. *J Crohns Colitis* 2013 ; **3** : 47-91.
- (36) Kröplin T, Iven H. Methylation of 6-mercaptopurine and 6-thioguanine by thiopurine S-methyltransferase. A comparison of activity in red blood cell samples of 199 blood donors. *Eur J Clin Pharmacol* 2000 ; **56** : 343-5.
- (37) Gisbert JP, Gomolln F. Thiopurine-induced myelotoxicity in patients with inflammatory bowel disease: a review. *Am J Gastroenterol* 2008 ; **103** : 1783-800.
- (38) Moreau AC, Paul S, Del Tedesco E, Rinaudo-Gaujoux M, Boukhadra N, Genin C, Peyrin-Biroulet L, Roblin X. Association between 6-thioguanine nucleotides levels and clinical remission in inflammatory disease: a meta-analysis. *Inflamm Bowel Dis* 2014 ; **20** : 464-71.
- (39) Dassopoulos T, Dubinsky MC, Bentsen JL, Martin CF, Galanko JA, Seidman EG, Sandler RS, Hanauer SB. Randomised clinical trial: individualised *vs.* weight-based dosing of azathioprine in Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2014 ; **39** : 163-75.
- (40) Dubinsky MC, Yang H, Hassard PV, Seidman EG, Kam LY, Abreu MT, Targan SR, Vasiliauskas EA. 6-MP metabolite profiles provide a biochemical explanation for 6-MP resistance in patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2002 ; **122** : 904-15.
- (41) Chaparro M, Ordás I, Cabré E, Garcia-Sanchez V, Bastida G, Peñalva M, Gomollón F, García-Planella E, Merino O, Gutiérrez A, *et al.* Safety of thiopurine therapy in inflammatory bowel disease: long-term follow-up study of 3931 patients. *Inflamm Bowel Dis* 2013 ; **19** : 1404-10.
- (42) Te HS, Schiano TD, Kuan SF, Hanauer SB, Conjeevaram HS, Baker AL. Hepatic effects of long-term methotrexate use in the treatment of inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 2000 ; **95** : 3150-6.
- (43) Ben-Horin S, Chowers Y. Review article: loss of response to anti-TNF treatments in Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2011 ; **33** : 987-95.
- (44) Maser EA, Vilella R, Silverberg MS, Greenberg GR. Association of trough serum infliximab to clinical outcome after scheduled maintenance treatment for Crohn's disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006 ; **4** : 1248-54.
- (45) Seow CH, Newman A, Irwin SP, Steinhart AH, Silverberg MS, Greenberg GR. Trough serum infliximab: a predictive factor of clinical outcome for infliximab treatment in acute ulcerative colitis. *Gut* 2010 ; **59** : 49-54.
- (46) Roblin X, Marotte H, Rinaudo M, Del Tedesco E, Moreau A, Phelip JM, Genin C, Peyrin-Biroulet L, Paul S. Association between pharmacokinetics of adalimumab and mucosal healing in patients with inflammatory bowel diseases. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2014 ; **12** : 80-4.e2.
- (47) Karmiris K, Paintaud G, Noman M, Magdelaine-Beuzelin C, Ferrante M, Degenne D, Claes K, Coopman T, Van Schuerbeek N, Van Assche G, *et al.* Influence of trough serum levels and immunogenicity on long-term outcome of adalimumab therapy in Crohn's disease. *Gastroenterology* 2009 ; **137** : 1628-40.
- (48) Vincent FB, Morand EF, Murphy K, Mackay F, Mariette X, Marcelli C. Antidrug antibodies (ADAb) to tumour necrosis factor (TNF)-specific neutralising agents in chronic inflammatory diseases: a real issue, a clinical perspective. *Ann Rheum Dis* 2013 ; **72** : 165-78.
- (49) Vermeire S, Ferrante M, Rutgeerts P. Recent advances: personalised use of current Crohn's disease therapeutic options. *Gut* 2013 ; **62** : 1511-5.
- (50) Roblin X, Rinaudo M, Del Tedesco E, Phelip JM, Genin C, Peyrin-Biroulet L, Paul S. Development of an algorithm incorporating pharmacokinetics of adalimumab in inflammatory bowel diseases. *Am J Gastroenterol* 2014 ; **109** (8) : 1250-6.