

UNIVERSITE KASDI MERBAH OUARGLA
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences Biologiques



Mémoire

MASTER ACADEMIQUE

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Présenté par :

BOUSSENIU Madjda et LATRECHE Amira

Thème

**Recherche des auto-anticorps antinucléaires dans les
maladies auto-immunes dans la région du Sahara
Septentrional Est algérien**

Soutenu publiquement Le :

03/ 07 /2019

Devant le jury composé de:

| | | | | |
|------|---------------|-----|------------|---------------|
| Mme. | ANNOU Ghania | MCB | Présidente | Univ. Ouargla |
| M. | MOSBAH Said | MCB | Examineur | Univ. Ouargla |
| M. | BOUAL Zakaria | MCA | Encadreur | Univ. Ouargla |

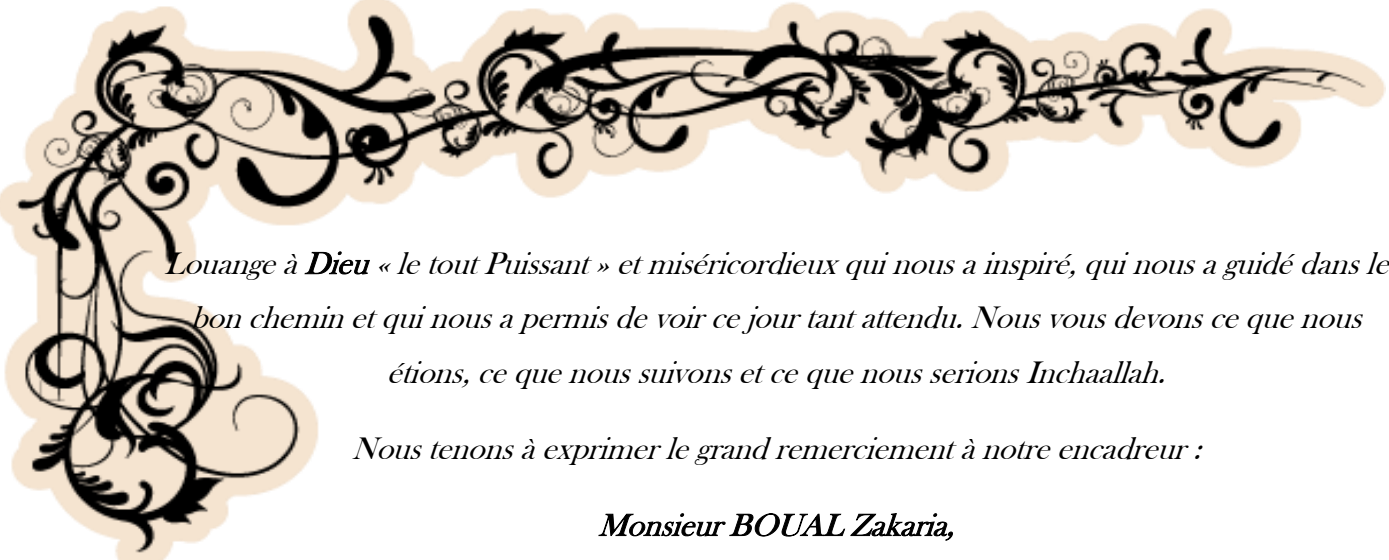
Année universitaire 2018 / 2019

La réalisation d'un projet et ce qu'elle nécessite de connaissances théoriques et de savoir-faire pratiquer est une opportunité intéressante pour apprendre à gérer un travail du début jusqu'à la fin. L'organisation s'avère un élément déterminant pour la bonne conduite du projet et pour les réalisations des différentes phases qui le constituent.



REMERCIEMENTS





Louange à Dieu « le tout Puissant » et miséricordieux qui nous a inspiré, qui nous a guidé dans le bon chemin et qui nous a permis de voir ce jour tant attendu. Nous vous devons ce que nous étions, ce que nous suivons et ce que nous serions Inchaallah.

Nous tenons à exprimer le grand remerciement à notre encadreur :

Monsieur BOUAL Zakaria,

Maître de conférences au Département des Sciences Biologiques à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Kasdi Merbah-Ouargla.

Quels que soient les mots utilisés, nous ne saurions vous exprimer suffisamment nos remerciements et le témoignage de notre profond respect et notre haute considération. Nous sommes très touchés par la confiance que vous nous avez confié en nous confiant ce sujet. Ce fut pour nous un honneur et un grand plaisir d'avoir préparé notre mémoire sous votre guidance. Merci de nous avoir aiguillé tout au long de la préparation de ce travail. Nous vous remercions grandement car vous étiez toujours à disposition pour répondre à nos questions et remarques de manière très cordiale et nous sommes très reconnaissants des grands efforts que vous avez fournis en dirigeant ce travail.

Nous garderons le souvenir de cette expérience très enrichissante à travers laquelle nous avons appris les premières règles de la rédaction scientifique.

Nous vous prions cher Maître, de recevoir nos remerciements renouvelés ainsi que l'assurance de notre profonde gratitude.

...MERCI infiniment.



*Nous présentons nos remerciements les plus sincères et les plus chaleureux au **Dr. HADJADJ Sofiane** le Directeur du Laboratoire d'analyses médicales « EL AMEL » dans la région d'Ouargla pour nous avoir permis de réaliser ce stage que nous a permis de faire le rapprochement entre les notions acquises en cours et les travaux dirigés et leurs applications concrètes, ce qui est une source de motivation. Nous remercions aussi tout le personnel du laboratoire : **Meriem, Abou Alkacem, Ali, Salah** et **Hafsa** pour les informations utiles dans notre travail et pour votre disponibilité.*

*Nous remercions aussi le Laboratoire d'analyses médicales « IBN ROCHD » dans la région de Ghardaïa, en particulier son Directeur **Dr. AMMI SAÏD Mustapha** de nous avoir accueilli au sein du laboratoire, où nous avons effectué une partie importante et déterminante de nos recherches.*

*Nous ne manquerons pas de remercier **M. Brahim** pour son aide et sa gentillesse.*

Nous sommes très honorés par l'intérêt porté à ce travail par le président et les membres du jury qu'ont accepté de l'évaluer.

*Nous tenons à remercier **Mme ANNOU G.,***

***Maitre de conférences B** au Département des Sciences Biologiques à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université **Kasdi Merbah-Ouargla.**, d'avoir accepté de présider le jury de soutenance de ce mémoire malgré cette lourde responsabilité. Soyez assurée madame de notre sincère gratitude.*

Mr. MOSBAH S.,

***Maitre de conférences B** au Département des Sciences Biologiques à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université **Kasdi Merbah-Ouargla.**, est vivement remercié d'avoir examiné ce travail, de faire partie de ce jury et d'enrichir le débat scientifique. Nous vous exprimons notre profonde gratitude.*

*Enfin, nous ne pouvons pas clôturer cette page de remerciement sans adresser nos chaleureux remerciements à tous les enseignants qui ont contribué à notre formation au sein de l'Université **Kasdi Merbah-Ouargla** et à tous ceux que nous n'avons pas cités et qui nous ont aidés de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.*

Merci pour vous tous.





DEDICACES





Je dédie ce travail et ma profonde gratitude... 

A mes très CHÈRES PARENTS

Les deux êtres chers qui m'ont prodigué tant de bonheur et de protection, qui ont fait tant de sacrifices pour mon éducation, et qui n'ont jamais cessé de me combler par leur soutien et leur générosité. Les enseignants qui m'ont appris les actes les plus nobles de la vie et qui m'ont inculqué l'esprit de partage, l'honnêteté et le travail, et qui continuent à m'entourer de leur amour.

Aucun merci ne saurait exprimer mon amour et ma forte appréciation.

Vous faites certainement partie de ce travail.

J'implore Dieu le tout puissant de vous protéger et vous soutient!

A mon HOMME

Aucun mot ne saurait exprimer mes sentiments les plus profonds envers toi. Ton soutien, ta gentillesse sans égale, tes encouragements et ton profond attachement m'ont permis de réussir mes études. Tu as été compréhensif et tu m'as apporté l'amour et la tendresse.

Que ce travail soit l'expression de mon grand profond amour.

Que Dieu te protège et te fortifie!

A mes CHÈRES FRÈRES

Acceptez ce modeste travail en témoignage de mon amour. Vous m'avez encouragé et facilité les choses le long de ce travail.

Que Dieu vous protège et vous assure une bonne santé, une longue et une heureuse vie et consolide les liens sacrés qui nous Unissent.

A tous mes PROCHES

En souvenir des moments agréables passés ensemble, veuillez trouver dans ce travail l'expression de mes sentiments les plus respectueux avec mes vœux de succès et bonheur.

A tout ce qui m'aiment et a tout ce que j'aime. À tous mes enseignants qui m'ont donné les conseils d'or pour atteindre la réussite. A toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de Ce mémoire.

B. Madjda





C'est avec très grand honneur que Je dédie ce modeste travail

Avant tous à mon DIEU

Le tout puissant de m'avoir donné la force, la santé, la volonté achevé et la patience pour mener à bien ce travail.

A mes très CHÈRES PARENTS

Qui m'ont donné la naissance et la croyance religieuse, qui m'ont aidé dans ma vie et qui n'ont cessé de m'encourager et de me soutenir tout au long de mes études. Vraiment aucune dédicace, aucun mot ne saurait exprimer mon attachement, mon affection et l'amour que je vous porte. Je vous souhaite tout le bonheur et la santé.

A mon fiancé KHALED

Pour ta compréhension, ta confiance, ta patience et ta tendresse. Tu m'as toujours soutenu et réconforté. Tu es et tu resteras toujours ma source d'encouragement. Tu as supporté mes caprices pendant certaines périodes de ce parcours. Sincère gratitude.

A mes frères SAYAH, RIDHA et à ma chère sœur MALAK

Qu'ont partagé avec moi tous les moments d'émotions lors de la réalisation de ce travail.

A ma grande FAMILLE

Qui m'a doté d'une éducation digne. Leur amour a fait de moi ce que je suis aujourd'hui.

A mes amies de ma vie ASMA et AMAL

Qui m'ont soutenu et qu'ont partagé avec moi des moments inoubliables pendant et dehors ce travail.

A tous mes collègues de promotion de master II biochimie appliquée 2018- 2019, et à toute personne qui m'a encouragé et aidé au long de mes études.

Je dédie ce travail aussi à mon encadreur Mr. BOUAL Zakaria, à mes enseignants qui m'ont aidé à tracer le chemin de réussite.

L. Amira



Liste des abréviations

| | |
|--------------------|--|
| AAN | Anticorps antinucléaire |
| Ac | Anticorps |
| AAc | Auto-Anticorps |
| ACA | Anticorps Anti-Centromère |
| ADCC | Cytotoxicité cellulaire dépendante des Anticorps |
| ADN | Acide désoxyribonucléique |
| ADNdb | ADN double brin |
| ADNn | ADN natif |
| ADNsb | ADN simple brin |
| Ag | Antigène |
| AIRE | <i>Auto-immune regulatory element</i> |
| ANA | <i>Antinuclear Antibody</i> |
| Anti-CCP | Anticorps Anti-Peptides Citrullinés |
| Anti-dsDNA | <i>Antibody anti-double-stranded DNA</i> |
| Anti-Jo-1 | Anticorps anti-aminoacyl-t-RNA-synthétases |
| Anti-RNP | Anticorps anti-Ribonucléoprotéine |
| Anti-Ro/SSA | Anticorps anti-Ribonucléoprotéique nucléaires Solubles A |
| Anti-Scl-70 | Anticorps anti-topoisomérase I |
| Anti-Sm | Anticorps anti-Smith |
| Anti-snRNP | <i>Anti-Small nuclear ribonuclear protein</i> |
| Anti-SSB | <i>Anti peptide sicca syndrome B</i> |
| ARN | Acide ribonucléique |
| ARNt | Acides ribonucléiques de transfert |
| Auto-Ac | Auto-anticorps |
| BCR | Récepteur des cellules B |
| BSA | Sérum albumine bovine |
| CD | Marqueur de différenciation |

| | |
|---------------|--|
| CENP | Protéines des centromères |
| CMH | Complexe majeur d'histocompatibilité |
| CPA | Cellules présentatrices de l'Ag |
| CREST | C = des Calcifications sous cutanée R = un syndrome de Raynaud E = des anomalies OEosophagiennes S = une Sclérodactylie T = des Télangiectasies |
| CRP | Protéine C réactive |
| CTD | <i>Connective Tissue Diseases</i> |
| CTLA-4 | <i>Cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4</i> |
| DID | Diabète insulino-dépendant |
| ELISA | <i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i> |
| ENA | Anticorps anti-antigènes nucléaires solubles |
| FAN | Facteurs Antinucléaires |
| H | Histones |
| HAI | Hépatite auto-immune |
| Hep2 | <i>Human epithelial cell line type 2</i> |
| HLA | <i>Human Leukocyte Antigen</i> |
| IFI | Immunofluorescence Indirect |
| Ig | Immunoglobuline |
| IgG | Immunoglobuline G |
| IgM | Immunoglobuline M |
| IL-2 | Interleukine 2 |
| KDa | Kilodalton |
| LB | Lymphocytes B |
| LED | Lupus Erythémateux Disséminé |
| LES | Lupus Erythémateux Systémique |
| LT | Lymphocyte T |
| MAI | Maladie auto-immune |
| PBS | Tampon phosphate salin |

| | |
|-------------|--|
| PD-1 | <i>programmed cell death protein-1</i> |
| PR | Polyarthrite rhumatoïde |
| RNP | Ribonucléoprotéine |
| ScS | Systémique Sclérose spécifique |
| SGS | Syndrome de Gougerot-Sjögren |
| TCR | Récepteur des lymphocytes T |
| TGF | <i>Transforming growth factor</i> |
| TLR | Récepteurs de type Toll |
| TNF | Facteur de nécrose tumorale |
| VS | Vitesse de sédimentation |

Liste des tableaux

| N° | Titre | Page |
|----|--|------|
| 01 | Pathologies pouvant être associées à des anticorps antinucléaires (Emile, 2017) | 29 |
| 02 | Principaux auto-anticorps antinucléaires évoqués en fonction de l'aspect de la fluorescence sur cellules Hep2 (Arsène et Olivier, 2012 ; Goetz, 2012) | 40 |
| 03 | Signification diagnostique et prévalence des principaux ANA au cours des affections auto-immunes (Humbel, 2000 ; Sibilis, 2002 ; Lassoued <i>et al.</i> , 2005 ; Goetz, 2012). | 46 |
| 04 | Résultats des patients ayant IFI positif avec des Ac Anti-ENA identifiés | 66 |
| 05 | Caractéristiques des 09 patients ayant répondu à la fiche questionnaire | 69 |

Liste des figures

| N° | Titre | Page |
|----|---|------|
| 01 | Tolérance centrale et périphérique aux Ag du soi (Abul <i>et al.</i> , 2009) | 13 |
| 02 | Tolérance centrale des lymphocytes T (Abul <i>et al.</i> , 2009) | 14 |
| 03 | Anergie des lymphocytes T (Abul <i>et al.</i> , 2009) | 15 |
| 04 | Suppression des réponses immunitaires par les LT (Abul <i>et al.</i> , 2009) | 16 |
| 05 | Tolérance centrale des lymphocytes B immatures (Abul <i>et al.</i> , 2009) | 17 |
| 06 | Démarche de la recherche des AAN (Petitpierre <i>et al.</i> , 2009) | 35 |
| 07 | Anticorps anti-Ig humaines marqués à la fluorescéine (Liu et Wang, 2014) | 36 |
| 08 | Différents aspects de fluorescence (Chakar, 2015) | 38 |
| 09 | Démarche utilisée pour la recherche des AAN | 51 |
| 10 | Répartition des patients selon le sexe | 60 |
| 11 | Répartition des patients selon la tranche d'âge | 61 |
| 12 | Répartition des patients selon le titre de l'ANA | 62 |
| 13 | Répartition des patients selon l'aspect de la fluorescence. | 64 |
| 14 | Répartition des patients selon la positivité de l'IFI et l'identification des Anti-ENA. | 65 |
| 15 | Répartition des patients selon la positivité d'ELISA et l'identification des Ac Anti-ENA. | 68 |
| 16 | Répartition des patients selon le type de l'ANA | 72 |
| 17 | Expression des auto-anticorps antinucléaires selon le sexe | 73 |

Liste des photos

| N° | Titre | Page |
|----|---|------|
| 01 | Automate Alegria® | 50 |
| 02 | Bandelette test Alegria® | 53 |
| 03 | Ajout du sérum du patient dans le puit 1 vide | 53 |
| 04 | Emplacement des barrettes test dans les « Sys Trays » | 54 |
| 05 | Prétraitement de la bandelette avec le contrôle positif | 55 |
| 06 | Dilution 1/10 du sérum (A) ; ajout du sérum avec la bandelette (B) ; incubation sous l'agitation à l'aide de l'agitateur automatique (C) | 56 |
| 07 | Dilution 1/10 de la solution de Lavage (A) ; lavage de la bandelette (B) | 56 |
| 08 | Incubation de la bandelette avec le conjugué enzymatique dilué | 57 |
| 09 | Lavage de la bandelette avec le tampon de lavage | 57 |
| 10 | Séchage de la bandelette à l'air libre | 58 |
| 11 | Evaluation de la bandelette | 58 |

Table des matières

Remerciements

Dédicaces

Liste des tableaux

Listes des figures

Liste des photos

Table des matières

Introduction..... 2

Partie 01. Synthèse bibliographique

Chapitre I. Maladies auto-immunes

| | |
|---|----|
| I.1. Historique | 6 |
| I.2. Auto-immunité | 7 |
| I.2.1. Définition de l'auto-immunité | 7 |
| I.2.2. Auto-immunité physiologique | 7 |
| I.2.3. Auto-immunité pathologique..... | 8 |
| I.3. Epidémiologie des maladies auto-immunes | 8 |
| I.4. Facteurs de risque..... | 8 |
| I.4.1. Sexe et Age..... | 8 |
| I.4.2. Facteurs génétiques..... | 10 |
| I.4.3. Facteurs environnementaux | 10 |
| I.4.4. Rôle des médicaments | 11 |
| I.4.5. Stress..... | 11 |
| I.5. Physiopathologie des MAI..... | 11 |
| I.5.1. Mécanismes du maintien de la tolérance immunitaire | 11 |
| I.5.2. Tolérance des lymphocytes T | 13 |
| I.5.3. Tolérance des lymphocytes B..... | 16 |
| I.6. Mécanismes de l'auto-immunité | 17 |
| I.6.1. Activation des cellules ignorantes autoréactives | 17 |
| I.6.2. Rupture de la tolérance des LT..... | 18 |
| I.6.3. Rupture de la tolérance des LB..... | 19 |

| | |
|---|----|
| I.7. Mécanismes lésionnels des effecteurs auto-immuns..... | 19 |
| I.7.1. Lésions associées aux lymphocytes T | 19 |
| I.7.2. Lésions médiées par les auto-anticorps | 20 |
| I.7.3. Composante inflammatoire des MAI | 22 |
| I.8. Classification des maladies auto-immunes | 22 |
| I.8.1. Maladies auto-immunes spécifiques d'organes | 22 |
| I.8.1.1. Diabète de type 1 | 22 |
| I.8.1.2. Thyroïdites auto-immunes | 23 |
| I.8.1.3. Hépatite auto-immune..... | 23 |
| I.8.1.4. Myasthénie..... | 23 |
| I.8.1.5. Polyarthrite rhumatoïde | 24 |
| I.8.2. Maladies auto-immunes non spécifiques d'organes..... | 24 |
| I.8.2.1. Lupus érythémateux systémique..... | 24 |
| I.8.2.2. Syndrome de Gougerot-Sjögren | 24 |
| I.8.2.3. Sclérodermie | 25 |
| I.8.2.4. Connectivité mixte | 25 |

Chapitre II. Marqueurs biologiques des MAI

| | |
|---|----|
| II.1. Auto-anticorps naturels et pathologiques..... | 27 |
| II.1.1. Rapport entre les auto-anticorps naturels et pathologiques..... | 27 |
| II.2. Auto-anticorps antinucléaires | 28 |
| II.2.1. Définition | 28 |
| II.3. Anticorps spécifiques d'acides nucléiques et de nucléoprotéines | 29 |
| II.3.1. Anticorps anti-ADN natif..... | 29 |
| II.3.2. Anticorps anti-histones..... | 30 |
| II.3.3. Anticorps anti-nucléosomes | 30 |
| II.4. Anticorps spécifiques d'antigènes nucléaires solubles | 30 |
| II.4.1. Anti-Smith..... | 30 |
| II.4.2. Anticorps anti-U1RNP | 31 |
| II.4.3. Anticorps anti-Ro/SSA et anti-La/SSB..... | 31 |
| II.4.4. Anticorps anti-Scl-70 | 31 |
| II.4.5. Anticorps anti-centromère..... | 32 |

| | |
|--|----|
| II.4.6. Anticorps anti-Jo-1 et autres anticorps antisynthétase | 32 |
| II.4.7. Anticorps anti-PM/Scl..... | 33 |
| II.4.8. Anticorps anti-Ku..... | 33 |
| II.4.9. Anticorps anti-PM1..... | 33 |
| II.4.10. Anticorps anti-PCNA..... | 33 |

Chapitre III. Recherche des auto-anticorps dans les MAI

| | |
|--|----|
| III.1. Stratégie de la recherche des AAN..... | 35 |
| III.2. Techniques de dépistage..... | 36 |
| III.2.1 Immunofluorescence indirecte..... | 36 |
| III.2.2. DNA Crithidia luciliae..... | 40 |
| III.3.1. Enzyme-linked immunosorbent assay | 41 |
| III.3.2. Immunodot..... | 42 |
| III.3.4. Autres méthodes..... | 42 |
| III.4. Importance de l'antigène utilisé | 43 |
| III.3. Intérêt pratique des anticorps antinucléaires | 44 |
| III.4. Traitements des MAI..... | 47 |

Partie 02. Partie pratique

Chapitre I. Matériels et méthodes

| | |
|---|----|
| I.1. Description de la population | 50 |
| I.2. Matériel biologique | 50 |
| I.3. Démarche de la recherche des ANA/FAN totaux | 50 |
| I.4. Dosage des ANA totaux par ELISA | 51 |
| I.4.1. Principe de dosage des ANA totaux par Alegria®..... | 52 |
| I.4.2. Réactifs prêts à l'emplois | 53 |
| I.4.3. Mode opératoire du test ANAscreen | 53 |
| I.5. Identification des anticorps anti-ENA par la méthode Immunodot | 54 |
| I.5.1 Principe du test Immunodot..... | 54 |
| I.5.2. Réactifs | 54 |
| I.5.3. Matériels | 55 |
| I.5.4. Mode opératoire du test EUROLINE ANA Profile 3 (IgG)..... | 55 |

Chapitre II. Résultats et discussion

| | |
|--|-----------|
| II.1. Répartition des patients selon le sexe | 60 |
| II.2. Répartition des patients selon la tranche d'âge | 61 |
| II.3. Analyse par Immunofluorescence Indirect et ELISA | 62 |
| II.3.1. Analyse par Immunofluorescence Indirect | 62 |
| II.3.1.1. Répartition des patients selon le titre de l'ANA..... | 62 |
| II.3.1.2. Répartition des patients selon l'aspect de fluorescence..... | 63 |
| II.3.1.3. Répartition des patients selon la positivité de l'IFI et l'identification des anticorps anti-ENA | 65 |
| II.4. Analyse des ANA par ELISA | 68 |
| II.4.1. Répartition des patients selon le type de l'ANA | 72 |
| II.4.2. Expression des auto-anticorps antinucléaires selon le sexe | 73 |
| Conclusion et perspectives..... | 75 |
| Références bibliographiques | 77 |
| Annexe..... | 86 |
| Résumés..... | 93 |

Introduction

L'auto-immunité est la rupture des mécanismes de tolérance qui conduit à l'action pathogène du système immunitaire vis-à-vis des constituants naturels de l'organisme, en provoquant des dommages structurels ou fonctionnels, et donc l'apparition d'une maladie dite auto-immune (Emile, 2017).

Les MAI constituent la 3^e cause de morbidité après les affections cardio-vasculaires et oncologiques, avec une prévalence de 5 à 6% de la population générale (Blanco, 2019).

Ces maladies sont divisées en MAI spécifiques d'organes, caractérisées par des lésions limitées à un tissu ou un organe, et les MAI non spécifiques d'organes, avec une atteinte systémique. Elles sont d'origine multifactorielle, en effet, la prédisposition à ces maladies repose le plus souvent à la fois sur des facteurs propres à l'individu telle que les facteurs génétiques, immunologiques, hormonaux et les facteurs d'environnement ou infectieux (Abid *et al.*, 2006).

La plupart des MAI sont caractérisées par la présence d'auto-anticorps dont certains sont de véritables marqueurs diagnostiques ou pronostiques. Le bilan auto-immun repose essentiellement sur la recherche d'auto-anticorps, qui sont des éléments clés du diagnostic chez une personne présentant des signes cliniques suggérant une MAI (Lamdarsi, 2018).

Les auto-anticorps antinucléaires sont un type des auto-anticorps dirigés contre une large variété d'auto-antigènes appartenant exclusivement ou non au noyau cellulaire (Chakar, 2015).

Les méthodes utilisées pour la recherche des ANA au niveau du laboratoire de biologie médical consistent à visualiser l'interaction de l'auto-Ac à rechercher avec son Ag cible à l'aide d'un Ac anti-Ig humaine marqué. L'Immunofluorescence Indirecte est le plus souvent une technique de dépistage, alors qu'il existe plusieurs techniques permettant de caractériser précisément la cible des auto-Ac dépistés mais aussi de les rechercher de façon directe et spécifiques ; il s'agit généralement de techniques immuno-enzymatiques de type ELISA ou Immunodot (Emile, 2017).

Ce travail repose sur une étude rétrospective portée sur un nombre de patients exprimant des auto-anticorps antinucléaires positifs dans la région du Sahara Septentrional Est algérien. L'objectif visé est d'aborder les différentes méthodes utilisées au cours de la recherche de ces ANA au sein des Laboratoires d'Analyses Médicales ; EL AMEL dans la région d'Ouargla et IBN ROCHD dans la région de Ghardaïa, afin de déterminer la valeur diagnostique des ANA et de savoir comment interpréter les résultats trouvés dans le bilan de l'auto-immunité.

Notre travail est structuré en trois parties. La première partie est une partie bibliographique constituée de trois chapitres, dont le premier chapitre décrit l'auto-immunité, les maladies auto-immunes, leur physiopathologie et quelques types des MAI. Le deuxième chapitre décrit les auto-anticorps antinucléaires et leurs types. En fin le troisième chapitre présente les principales méthodes de recherche et de dosage des ANA dans les laboratoires d'analyses médicales, ainsi que leurs associations pathologiques fréquentes.

La seconde partie décrit l'étude pratique ; elle est divisée en deux chapitres, dont le premier présente essentiellement la stratégie de dosage des ANA dans les laboratoires concernés par l'étude et une explication détaillée des principales techniques utilisées et étapes de dosage. Le deuxième chapitre expose les principaux résultats obtenus, suivi de discussions comportant des réponses aux interrogations que porte ce sujet et des interprétations argumentant ces résultats. Pour ce fait nous avons adopté les présentations statistiques.

En fin le travail se termine par une conclusion générale qui portera sur une lecture attentive des différents résultats obtenus et des perspectives futures achevant ce travail pour la poursuite d'une étude beaucoup plus approfondie.

Partie 01.

Synthèse bibliographique

Chapitre I.
Maladies auto-immunes

I.1. Historique

Le fait que l'organisme soit capable de donner des réponses immunitaires vis-à-vis des constituants exogènes, tout en gardant une tolérance pour les constituants de ses propres cellules, constitue un des paradoxes de l'immunologie. Vers la fin du siècle dernier Paul Ehrlich, médecin allemand, a observé le phénomène d'allo-immunisation causé par des isolysines en injectant à des chèvres des globules rouges homologues, alors que tous les essais d'auto-immunisation ont échoué par absence d'autolysines. Ces observations ont conduit à la notion de *horror autotoxicus*.

L'école pastoriennne, sous la direction d'Elie Metchnikoff apporta des preuves de l'existence d'une auto-immunisation. Metchnikoff en 1900, a réussi à obtenir des auto-anticorps anti-spermatozoïdes, en immunisant des cobayes à l'aide de spermatozoïdes d'autres cobayes. Ainsi, pendant 50 ans la possibilité d'un processus auto-agressif fût exclue. En 1940 Landsteiner a décrit les règles de la compatibilité transfusionnelle, et il a démontré l'existence d'isoagglutinines naturelles, toujours dirigées contre l'antigène non exprimé et l'absence constante d'auto-anticorps dirigés contre l'antigène exprimé. Ces expériences ont permis de définir le système ABO. Cette découverte fondamentale, jamais contredite à ce jour, a apporté un argument de poids à la notion de *horror autotoxicus*. (Dighiero et Oppezzo, 2003).

Presque en même temps, les expériences conduites par Owen en 1945 suivies par celles de Medawar ont eu une influence considérable dans l'élaboration de la théorie de la délétion clonale par le groupe de McFarland Burnet. L'interprétation de Burnet et Medawar, a été que l'organisme doit acquérir la capacité de discriminer le soi du non soi pendant la vie embryonnaire et que les clones autoréactifs sont éliminés pendant la vie fœtale. Cette interprétation a permis de forger le concept de tolérance (Matzinger, 2002).

En 1948, Hargraves a décrit les cellules de Hargraves (LE) sur frottis de patients atteints de LED. Ce phénomène se produit lors de la présence d'Ac anti-ADN. La cellule de Hargrave a été longtemps considérée comme marqueur du lupus. Vers 1954, Weller et Coons ont introduit la méthode d'IFI qui a révolutionné le dépistage des auto-Ac anti-tissulaires. En 1958, le test de FARR a été utilisé pour la détection des Ac anti-ADN natif. Avec le progrès des méthodes immunologiques tels que ELISA et Immunoblot, les découvertes d'auto-Ac s'accélérent.

A la fin des années 1950, Burnet, en établissant une base clonale à la différenciation des lymphocytes proposa que les clones autoréactifs soient éliminés au cours de l'ontogenèse. Les maladies auto-immunes ont dès lors été considérées comme liées à un défaut des processus de sélection des répertoires immunitaires. Dès 1965 cependant, Boyden a mis en évidence la présence de LT et LB dirigés contre des Ag du soi chez l'animal normal. Les lymphocytes autoréactifs et les auto-anticorps présents chez l'individu sain, ont ensuite été reconnus comme constituant une part importante des répertoires immunitaires exprimés chez le sujet sain (Luc Mouthon *et al.*, 1999).

I.2. Auto-immunité

I.2.1. Définition de l'auto-immunité

L'auto-immunité est une réponse immunitaire dirigée contre un antigène ou des antigènes du soi. La rupture des mécanismes de tolérance au soi conduit à l'action pathogène du système immunitaire vis-à-vis des constituants naturels de l'organisme et à l'apparition des maladies auto-immunes (Chakar, 2015).

Les MAI sont un groupe de maladies inflammatoires hétérogènes, polymorphes, se traduisant par des signes cliniques très variés, et qui peuvent être communs à plusieurs maladies. Elles ont une évolution chronique marquée ainsi par des poussées et des complications (Pellegrin, 2010). Néanmoins, certaines MAI peuvent être graves car elles sont invalidantes et/ou mortelles. En effet, la morbidité de ce groupe de maladies est liée à la pathologie elle-même, parce qu'elles se caractérisent par : L'atteinte des organes nobles, l'augmentation du risque cardio-vasculaire et les complications néoplasiques (Talagas et Leduc, 2007).

I.2.2. Auto-immunité physiologique

Il existe une auto-immunité naturel, non dommageable pour l'organisme et indispensable au maintien d'un état permanent de vigilance, elle est étroitement contrôlée pour éviter le développement des réactions immunitaires délétères contre les propres constituants de l'organisme (ASSIM, 2018). Il existe des LB autoréactifs qui répondent par des Ac naturels de faible affinité et des LT autoréactifs de faible affinité. Egalement, l'activation et l'expression des LT et des LB sont étroitement contrôlées dans les conditions physiologiques pour l'élimination des cellules détruits

ou vieilliss ou pour la régulation de la réponse immunitaire. Il s'agit d'une auto-immunité physiologique qui régule l'homéostasie du système immunitaire (Cofer, 2011).

I.2.3. Auto-immunité pathologique

L'auto-immunité est physiologique, mais le système de régulation de cette auto-immunité peut être défaillant. Il apparaît alors une auto-immunité pathologique auto-agressive, qui va aboutir au déclenchement d'une MAI, soit par la prolifération des LB auto-agressifs, soit par la prolifération des LT auto-agressifs de forte affinité (Huck et Zouali, 1996).

I.3. Epidémiologie des maladies auto-immunes

Les maladies auto-immunes touchent environ 5 % de la population mondiale, avec 3% pour les hommes et 7,1% pour les femmes (Hayter et Cook, 2012).

L'épidémiologie des MAI reste difficile à déterminer avec précision, car il faut éviter les biais de sélections liés au regroupement des patients dans les grands centres hospitaliers. Par exemple, la polyarthrite rhumatoïde, le syndrome de Gougerot Sjögren et le diabète auto-immun sont des MAI fréquentes, leurs prévalences sont respectivement de 1000 à 4000 pour 100 000 habitants, 100 à 500 cas pour 100 000 habitants et 200 à 300 pour 100 000 habitants. Le LES et la sclérodermie sont des MAI systémiques rares avec une prévalence respective de 15 à 50 pour 100000 habitants et 20 pour 100 000 habitants (Cotten *et al.*, 2013).

I.4. Facteurs de risque

I.4.1. Sexe et Age

Les rapports entre les sexes révèlent que de nombreuses MAI ont une prédominance féminine frappante avec 3 à 6 femmes pour 1 homme à tout âge. Ceci est particulièrement vrai pour les MAI systémiques telles que le LES, le SGS, et la connectivité mixte et les MAI spécifiques d'organes comme la cirrhose biliaire primitive et les maladies thyroïdiennes auto-immunes. Chez la femme, ces maladies sont retrouvées en période d'activité ovarienne avec un pic de fréquence entre 10 et 40 ans pour le LED et entre 30 et 50 ans pour la sclérodermie, alors que le SGS touche

les femmes dans 90% des cas et s'observe surtout dans la période de la ménopause (Armengol *et al.*, 2014).

La prédominance féminine dans l'auto-immunité peut être liée aux hormones sexuelles et/ou aux gènes liés au sexe comme le suggèrent des modèles animaux et des études cliniques, dans certaines MAI telles que le LES. L'œstrogène et l'androgène et la prolactine, ainsi que des perturbations endocriniennes exogènes peuvent rompre la tolérance et induire un développement de l'auto-immunité. Dans d'autres MAI, telles que la myasthénie, le diabète de type 1 et la myocardite auto-immune montrent peu ou pas de prédominance féminine, donc la pathogenèse ne semble pas être fortement influencée par les hormones sexuelles, ce qui montre le rôle possible d'autres facteurs liés au genre (Zandman-Goddard *et al.*, 2007 ; Pollard, 2012). La prédisposition féminine au développement des MAI pourrait être associée au fait que les chromosomes X abritent des gènes impliqués dans l'amplification de la réponse immunitaire. Ces gènes pourraient ne pas toujours être inactivés par le processus d'inactivation du chromosome X et leur surexpression conduit à un risque augmenté de MAI par une expression plus importante de TLR7 codé par le chromosome X ce qui induit une surproduction d'IFN- α et un risque accru de LES chez la femme (ASSIM, 2018).

Les androgènes semblent exercer principalement des effets inhibiteurs sur la réponse immune en général et l'auto-immunité, en particulier par des mécanismes agissant directement sur des cellules du système immunitaire ou sur certains organes cibles. De même, les androgènes semblent augmenter l'activité des LT suppresseurs peut-être par l'intermédiaire de l'IL-2. Des observations suggèrent qu'un déficit androgénique pourrait être associé à l'apparition de manifestations immuno-pathologiques (Edwards *et al.*, 1989 ; Huck et Zouali, 1996). Au contraire les hormones féminines telles que les estrogènes stimuleraient le système immunitaire et donc ses dysfonctionnements (Blanco, 2019).

Certaines études ont confirmé l'association de l'auto-immunité et la prévalence plus élevée des auto-anticorps chez les personnes âgées (Candore *et al.*, 2002 ; Nilsson *et al.*, 2006). L'étude de van der Geest *et al.* a montré que les lymphocytes B pro-inflammatoires capables de produire du TNF- α étaient retenus chez les personnes âgées, alors que les LB capables de produire de l'IL-10 étaient diminués chez les sujets âgés (Van der Geest *et al.*, 2016).

I.4.2. Facteurs génétiques

Le développement de l'auto-immunité dépend de gènes de susceptibilité comme le suggère l'existence de MAI familiales. Le schéma de l'hérédité est complexe, ce qui indique que plusieurs gènes sont impliqués. Bien qu'il soit improbable que les mêmes gènes soient responsables de la prédisposition à toutes les MAI. Les études génétiques réalisées dans les modèles animaux ont montré qu'il existait au moins 25 gènes qui peuvent contribuer à une susceptibilité particulière aux MAI. Ces gènes codent principalement pour les protéines du CMH de classe I et de classe II, les cytokines, les récepteurs des cytokines, et les protéines impliquées dans la régulation de la réponse immunitaire et dans l'apoptose. Chez l'homme, la présence de certains allèles du HLA de classe I ou de classe II est associée à une augmentation du risque de survenue de certaines MAI. Cependant, pour aucune des MAI la prédisposition génétique conférée par HLA n'est ni suffisante ni nécessaire au développement de la maladie (Kristiansen *et al.*, 2000). L'impact des facteurs génétiques dans le risque de développer une MAI est globalement estimé à 30 %. Le plus souvent, la recherche de ces facteurs génétiques n'a pas d'indication dans le diagnostic des MAI en routine hospitalière, elle n'a d'intérêt que pour comprendre la physiopathologie des MAI (ASSIM, 2018).

I.4.3. Facteurs environnementaux

Divers facteurs environnementaux s'ajoutent pour déclencher une auto-immunité pathologique tels que les produits chimiques, la fumée et la nutrition sont impliqués dans le processus pathogène. Les facteurs environnementaux ont beaucoup retenu l'attention ces dernières années pour leur rôle dans le déclenchement de l'auto-immunité, avec des preuves de plus en plus évidentes de leur influence dans les études épidémiologiques et animales. Le tabagisme, la silice cristalline et l'exposition au trichloréthylène, au mercure, aux pesticides et au pristane sont considérés comme étant sérieux dans l'étiologie et la progression des MAI tels que le LES, la PR et l'hépatite auto-immune (Khan et Wang, 2017). Les agents infectieux ont souvent été évoqués comme agents responsables du déclenchement des MAI. Dans plusieurs modèles expérimentaux il a été montré que les infections participaient à l'activation des lymphocytes autoréactifs selon différents mécanismes. Des infections aiguës comme *Mycoplasma pneumoniae* ou des infections chroniques peuvent déclencher une MAI. Dans le diabète des entérovirus ont été impliqués par

mimétisme entre antigène de *Coxsackie B4* et la *Glutamic Acid Decarboxylase*, dans la thyroïdite de Hashimoto des rétrovirus et dans le lupus le virus d'Epstein-Barr (ASSIM, 2018).

I.4.4. Rôle des médicaments

Un certain nombre de médicaments et d'agents chimiques sont incriminés dans les MAI et en particulier dans le LES. Ce sont notamment, le procainamide qu'est un anti-arythmique qui peut déclencher un lupus, en particulier par la présence d'Ac dirigés contre les histones ; l'hydralazine qu'est un anti-hypertenseur ; le 5-azacytidine et les antiépileptiques (Garaud *et al.*, 2010). Le mécanisme d'action de ces drogues a été précisé puisqu'il fait intervenir une inhibition des ADN méthyltransférases (DNMTs) ou en amont une inhibition de la kinase Erk (*Extracellular signal-regulated kinase*) qui contrôle l'expression de DNMTs (Achour *et al.*, 2014).

I.4.5. Stress

Les conséquences biologiques du stress sont de plus en plus comprises. Le stress active l'axe hypothalamo-hypophyso-surrénalien et le système nerveux autonome à l'origine d'une sécrétion de glucocorticoïdes et de catécholamines dont le but est de rétablir l'équilibre des balances cytokiniques qui préexistait à l'événement stressant. Cependant, les effets au long cours du stress engendrent une diminution de l'immunité ce qui peut augmenter la susceptibilité aux maladies infectieuses, tumorales ou auto-immunes. La prise en charge spécifique du stress devrait donc faire partie du traitement d'une MAI (Chamoux et Delévaux, 2013).

I.5. Physiopathologie des MAI

I.5.1. Mécanismes du maintien de la tolérance immunitaire

Les LB et les LT sont programmés pour reconnaître spécifiquement des Ag par un récepteur spécifique, le BCR pour les LB et le TCR pour les LT. En théorie, compte tenu des réarrangements des différents gènes des BCR ou des TCR le répertoire immunitaire est formé de récepteurs. Cette grande richesse de répertoire explique que de nombreux récepteurs peuvent répondre et reconnaître des Ag propres à des molécules de l'organisme qui sont dénommées des Ag du soi (COFER, 2011).

La tolérance immunitaire est une absence de réponse aux Ag induite par l'exposition des lymphocytes à ces Ag, trois phénomènes peuvent se produire. En premier lieu, les lymphocytes peuvent être activés, entraînant une réponse immunitaire, les Ag qui déclenchent ce type de réponse sont dits immunogènes. En second lieu, les lymphocytes peuvent être inactivés sur le plan fonctionnel ou détruits permettant ainsi la tolérance, les Ag qui induisent une tolérance sont dits tolérogènes. Enfin, dans certaines situations, les lymphocytes spécifiques d'un Ag peuvent ne pas réagir du tout, ce phénomène est désigné par le terme ignorance, indiquant que les lymphocytes ignorent simplement la présence de l'Ag. Le choix des lymphocytes entre activation, tolérance et ignorance est déterminé par la nature des lymphocytes spécifiques de l'Ag et par la nature de l'Ag, ainsi que par la manière dont il est présenté au système immunitaire. En fait, le même Ag peut être administré d'une manière induisant une réponse immunitaire ou une tolérance (Abul *et al.*, 2009).

La tolérance immunitaire est importante pour plusieurs raisons. Tout d'abord, si nous connaissons la manière dont la tolérance est induite dans les lymphocytes spécifiques d'un Ag particulier, il sera alors possible d'utiliser ces connaissances pour empêcher ou contrôler des réactions immunitaires indésirables. Ensuite certaines stratégies visant à induire une tolérance sont actuellement à l'étude pour traiter les allergies ou les MAI et pour prévenir le rejet d'organes transplantés. Les mêmes stratégies peuvent s'appliquer à la thérapie génique afin de prévenir les réponses immunitaires dirigées contre les produits de gènes ou de vecteurs nouvellement exprimés, et même en cas de transplantation de cellules souches si le donneur est génétiquement différent du receveur (Abul *et al.*, 2009).

Différents mécanismes de tolérance permettent au système immunitaire de se protéger contre ces clones autoréactifs. Il existe trois types de tolérance :

-Tolérance centrale : Il s'agit d'un processus dont l'objectif est de vérifier la capacité de reconnaissance et de réactivité des récepteurs vis à-vis des Ag du soi afin d'éviter l'émergence de cellules autoréactives. Elle correspond à l'éducation au niveau des organes lymphoïdes primaires, au niveau thymique pour les LT et au niveau de la moelle osseuse pour les LB (figure 01). Cette tolérance centrale apparaît dès le stade embryonnaire et permet d'effectuer une sélection négative ou positive qui va éliminer les clones autoréactifs (COFER, 2011) ;

-Tolérance périphérique : Il s'agit d'un processus dont le but ultime est de moduler les réactions auto-immunes ainsi que de freiner les réponses immunitaires vis-à-vis d'exo-antigènes (Cotten *et al.*, 2013). La tolérance périphérique correspond à l'éducation des lymphocytes dans la circulation générale ou dans les organes lymphoïdes secondaires durant toute la vie de la maturation des lymphocytes ;

-Des mécanismes d'immuno-régulation complémentaires : par la production de cytokines anti-inflammatoires, d'anti-cytokines et le réseau idiotypique comme les auto-Ac naturels qui représentent 30 % environ des Ac circulants (COFER, 2011).

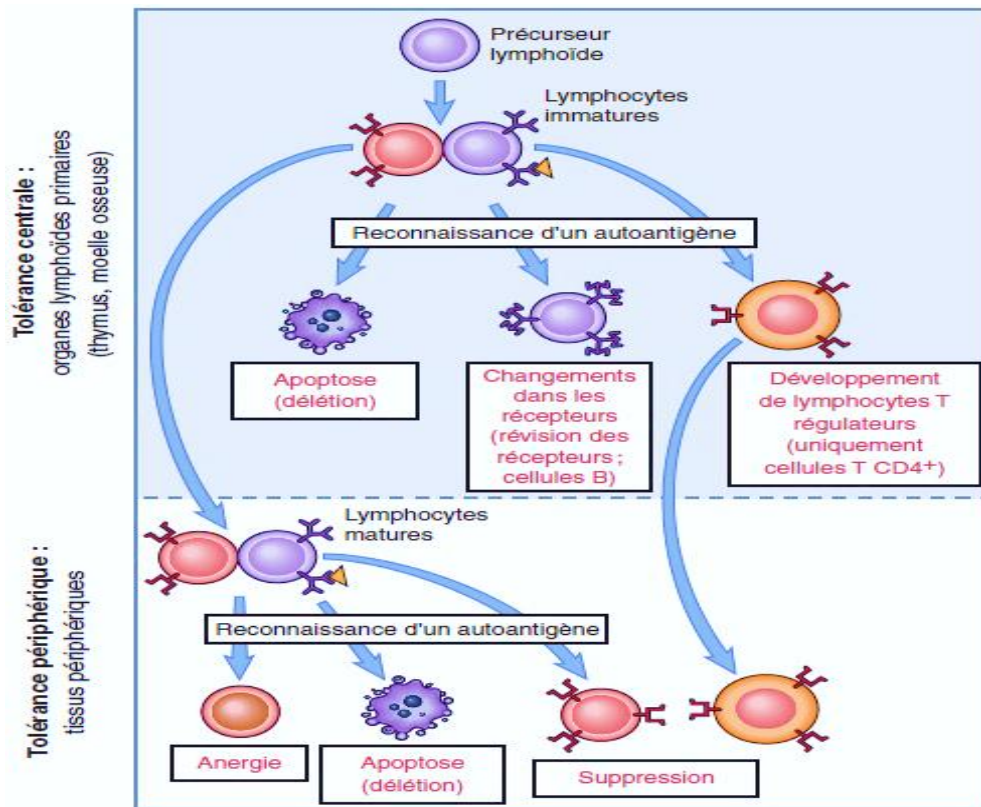


Figure 01. Tolérance centrale et périphérique aux Ag du soi (Abul *et al.*, 2009).

I.5.2. Tolérance des lymphocytes T

Au niveau du thymus les LT subissent une tolérance centrale en reconnaissant de nombreux Ag à la fois propres à l'individu et étrangers. Si un LT immature interagit avec l'Ag du soi présenté sous forme d'un peptide lié à une molécule du CMH du soi avec une grande affinité, ce lymphocyte

recevra des signaux de mort avant d'avoir pu achever sa maturation. Ce processus est également désigné par le terme de sélection négative et constitue un mécanisme important de la tolérance centrale. Les Ag qui induisent une sélection négative peuvent comprendre des protéines qui sont abondantes dans tout l'organisme, comme les protéines plasmatiques et les protéines cellulaires communes. Le facteur AIRE, est une protéine responsable de l'expression thymique de ces Ag protéiques par ailleurs propres à certains tissus. Des mutations du gène AIRE sont à l'origine d'un syndrome auto-immun rare portant le nom de polyendocrinopathie auto-immune. Certains LT immatures qui reconnaissent des Ag du soi dans le thymus ne meurent pas mais se transforment en LT régulateurs et gagnent les tissus périphériques (figure 02) (Abul *et al.*, 2009).

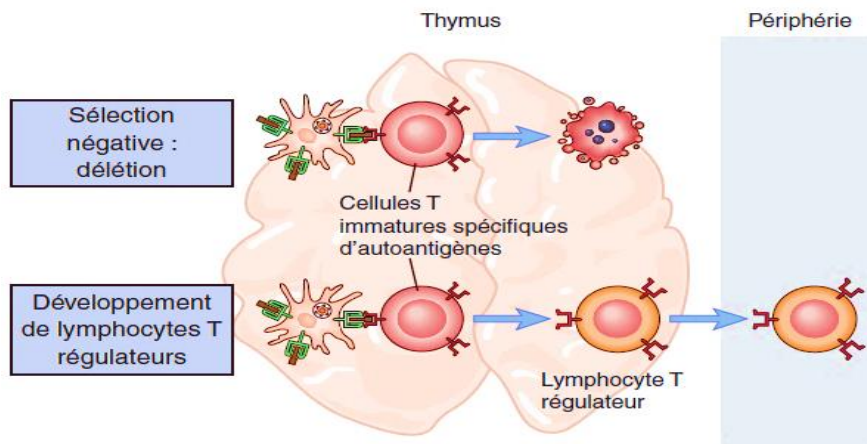


Figure 02. Tolérance centrale des lymphocytes T (Abul *et al.*, 2009).

Une tolérance périphérique des lymphocytes T est induite lorsque ces LT matures reconnaissent des Ag du soi dans les tissus périphériques, Il en existe trois mécanismes :

- Anergie : L'anergie est définie comme l'inactivation fonctionnelle des LT qui survient lorsque ces cellules reconnaissent des Ag en absence du signal co-stimulation d'intensité adéquate. Les LT naïfs nécessitent au moins deux signaux pour proliférer et se différencier en lymphocytes effecteurs (figure 03), le signal 1 est toujours l'Ag et le signal 2 est fourni par des molécules de co-stimulation qui sont exprimées sur les CPA professionnelles en réponse à la présence de microbes. Les LT possédant des récepteurs pour les Ag du soi sont capables de reconnaître ces Ag et par conséquent reçoivent des signaux de leurs récepteurs d'Ag (signal 1), mais les LT autoréactifs ne reçoivent pas une forte co-stimulation car il n'y a pas de réponse concomitante de l'immunité innée.

Dans ces conditions, les TCR des LT peuvent perdre leur aptitude à transmettre des signaux activateurs, ou les LT peuvent engager un de leurs récepteurs inhibiteurs (CD28 ou CD152). Le résultat est une anergie de longue durée des LT (Abul *et al.*, 2009).

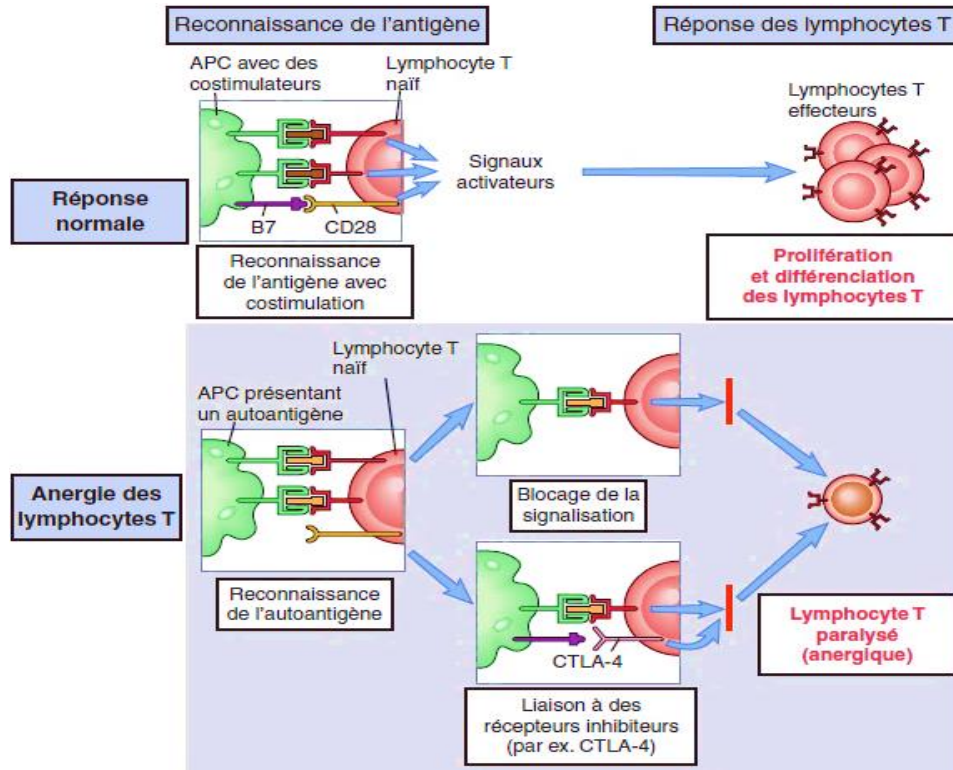


Figure 03. Anergie des lymphocytes T (Abul *et al.*, 2009).

- Suppression immunitaire par les LT régulateurs : Les LT qui reconnaissent des auto-Ag peuvent se différencier en cellules régulatrices exprimant le CD4, une forte densité de CD25 et la chaîne α du récepteur de l'IL-2 dans le thymus ou en tissus périphériques suite d'un processus qui dépend du facteur de transcription Foxp3 (*Forkhead box-P-3*) qui requiert l'IL2. Une majorité de LT régulateurs autoréactifs se développent probablement dans le thymus mais ils peuvent aussi se former dans les organes lymphoïdes périphériques. Le mécanisme par lequel les LT régulateurs inhibent les réponses immunitaires *in vivo* est mal connu. Certaines LT régulateurs produisent des cytokines comme l'IL-10 et le TGF- β qui inhibent l'activation des macrophages et la différenciation des LT naïfs en LT dangereux (figure 04) (Abul *et al.*, 2009).

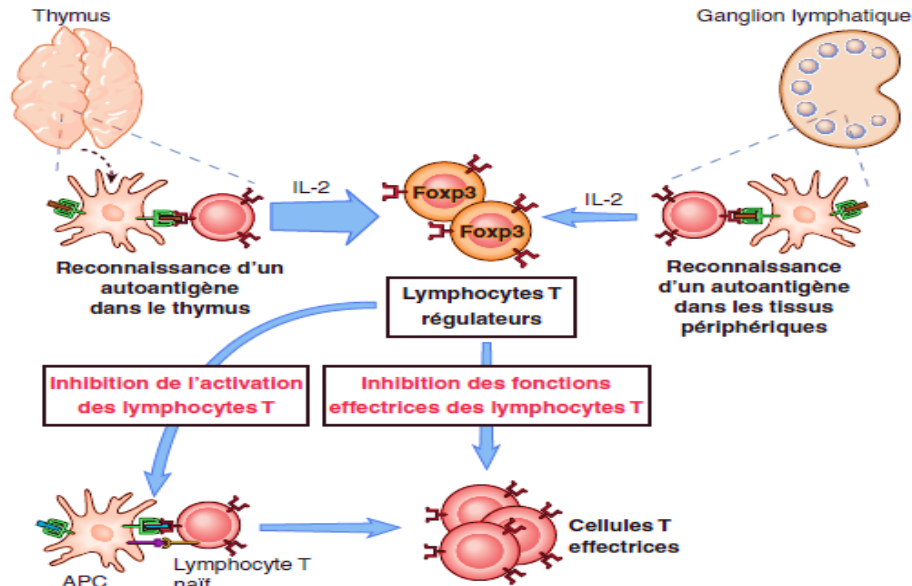


Figure 04. Suppression des réponses immunitaires par les LT (Abul *et al.*, 2009).

- **Délétion** : La reconnaissance de l'Ag du soi peut déclencher les voies de signalisation menant à l'apoptose, et donc l'élimination des lymphocytes autoréactifs. Il existe deux mécanismes probables de mort des LT matures induite par des auto-Ag. En premier lieu, la reconnaissance de l'Ag induit la production de protéines pro-apoptotiques dans les LT qui induisent la mort cellulaire par la voie mitochondriale, au cours de laquelle diverses protéines mitochondriales s'échappent et activent les caspases qui entraînent l'apoptose. En second lieu, la reconnaissance des auto-Ag peut entraîner la co-expression des récepteurs de mort et de leurs ligands. L'interaction ligand-récepteur génère des signaux passant par le récepteur de mort et qui aboutissent à l'activation des caspases et à l'apoptose par la voie dite des récepteurs de mort. Le récepteur de mort le mieux connu est la protéine Fas (CD95) qui est exprimée sur de nombreuses cellules et le ligand de Fas (FasL) qui est exprimé surtout sur les LT activés (Abul *et al.*, 2009).

I.5.3. Tolérance des lymphocytes B

Une tolérance centrale des lymphocytes B (figure 06) est induite lorsque ces LB immatures interagissent fortement avec des Ag du soi dans la moelle osseuse, soit ils modifient la spécificité de leur récepteur, soit ils sont tués, c'est la sélection négative. Certains LB immatures qui reconnaissent des Ag du soi dans la moelle osseuse peuvent réactiver leur machinerie de recombinaison des gènes des immunoglobulines et commencer à exprimer une nouvelle chaîne

légère d'Ig. Cette dernière s'associe à la chaîne lourde précédemment exprimée afin de produire un nouveau récepteur de l'Ag, qui n'est plus spécifique de l'Ag du soi. Ce changement de spécificité du récepteur appelé *receptorediting* ou révision du récepteur réduit la probabilité que des LB autoréactifs s'échappent de la moelle osseuse. Si la révision des récepteurs échoue, les LB immatures qui reconnaissent des auto-Ag meurent par apoptose (Abul *et al.*, 2009).

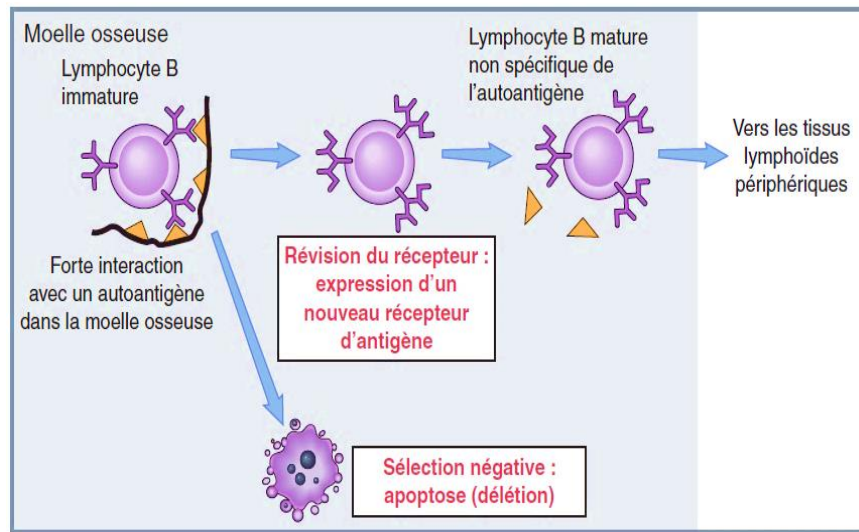


Figure 05. Tolérance centrale des lymphocytes B immatures (Abul *et al.*, 2009).

Les lymphocytes B matures qui rencontrent des auto-Ag présents à fortes concentrations dans les tissus lymphoïdes périphériques deviennent anergiques, c'est la tolérance périphérique des LB. Ces derniers anergiques quittent les follicules lymphoïdes et en sont ensuite exclus et peuvent mourir car ils ne reçoivent pas les stimulus de survie nécessaires (Abul *et al.*, 2009).

I.6. Mécanismes de l'auto-immunité

I.6.1. Activation des cellules ignorantes autoréactives

Un certain nombre d'Ag sont ignorés du système immunitaire car leur localisation anatomique ne les met pas en contact avec des lymphocytes; c'est le cas, des Auto-Ag séquestrés comme les Ag du cristallin dans la chambre antérieure de l'œil et des spermatozoïdes. Leur passage dans le sang au cours d'un traumatisme peut être à l'origine de l'activation des LB et LT. Ainsi, un traumatisme de l'un des deux yeux conduit à la libération de protéines antigéniques intraoculaires.

Les Ag libérés diffusent par voie lymphatique jusqu'au ganglion afférent et sont pris en charge par les CPA qui activent des LT. Ces LT n'ont pas subi de processus de délétion clonale vis-à-vis ces Ag au niveau du thymus, car ces Ag n'y sont physiologiquement pas présentés (ASSIM, 2018).

D'autres épitopes, dits épitopes cryptiques, sont ignorés du système immunitaire, non en raison de leur localisation histologique ou anatomique, mais à cause de leur localisation au sein de la molécule antigénique. Ces épitopes présents au sein des auto-Ag, peuvent susciter une réaction auto-immune si, à l'occasion d'une réaction inflammatoire, ils se trouvent présentés par les molécules du CMH. Ce serait le cas, de certains peptides cryptiques de la protéine basique de la myéline dans la sclérose en plaques (ASSIM, 2018).

I.6.2. Rupture de la tolérance des LT

Les principaux mécanismes qui pourraient être impliqués sont les suivants :

- Court-circuit des LT auxiliaires tolérants : un Ag exogène peut présenter des similitudes de structures avec un Ag du soi de telle sorte que la même molécule portera des épitopes du non soi et un épitope du soi. Ainsi, des LT reconnaissant un épitope étranger, pourront coopérer avec des LB dirigés contre l'épitope commun au soi et à l'Ag exogène, permettant ainsi aux LB de produire de grandes quantités d'AAC. Ce mimétisme moléculaire a lieu lors des infections, et façon analogue, la modification physique (ultraviolet, chaleur) ou chimique (médicaments) d'un auto-Ag peut déclencher une auto-immunisation.

- L'expression anormale des molécules HLA-II à la surface de cellules, qui naturellement n'en expriment pas, peut permettre à des LT d'échapper à la délétion et à l'anergie. Des infections virales peuvent induire une telle expression, cela n'est pas suffisant expérimentalement pour induire une MAI, mais dans la mesure où l'auto-immunisation est multifactorielle ce mécanisme peut être un des éléments impliqués. Un défaut de contrôle par des LT suppressives peut aussi contribuer à l'auto-immunisation comme le montrent certains modèles animaux et les déficits en fonctions des LT-suppressives constatés dans certaines MAI (Dighiero et Oppezzo, 2003).

- Récemment, un déficit en AIRE a été mis en évidence chez les patients présentant un syndrome APECED (*Autoimmune Polyendocrinopathy Candidiasis Ectodermal Dystrophy* ou

polyendocrinopathie auto-immune, candidose, dystrophie ectodermique). Ces patients présentent des manifestations auto-immunes spécifiques d'organes survenant dès l'enfance (hypoparathyroïdie, diabète de type 1, hypothyroïdie...etc), des troubles des phanères (alopécie, vitiligo, dystrophie unguéale...etc) ainsi qu'une susceptibilité accrue aux candidoses. À noter que le spectre des manifestations auto-immunes varie d'un patient à l'autre (Regent *et al.*, 2009).

I.6.3. Rupture de la tolérance des LB

Différents mécanismes peuvent contribuer à la rupture de tolérance des LB :

- Mimétisme moléculaire : il existe un certain nombre de situations au cours desquelles un mimétisme moléculaire peut être à l'origine de MAI. L'exemple historique du rhumatisme articulaire aigu illustre cette notion. En 1960, Kaplan *et al.*, ont montré que des Ac dirigés contre des Ag de streptocoques du groupe A se fixaient à des extraits cardiaques. Par la suite, des réactivités croisées ont été mises en évidence entre la myosine cardiaque et la protéine M du streptocoque du fait d'une séquence peptidique identique entre l'Ag du soi et l'Ag microbien. Par suite, les Ag microbiens pourront activer les LB autoréactifs.

- Une autre situation est la stimulation oligoclonale ou polyclonale des LB induite par un agent infectieux. Comme la survenue au cours de l'infection par le virus Epstein-Barr dans un contexte d'hypergammaglobulinémie polyclonale au cours d'une thrombopénie auto-immune.

- Défaut d'apoptose : au cours des syndromes lymphoprolifératifs auto-immuns, on observe chez des enfants une organomégalie, une hyper-lymphocytose périphérique et tissulaire avec une dominance de LT CD4/CD8 et de LB mais également des LT double négatif CD4-/CD8-. Il existe aussi des cytopénies auto-immunes éventuellement associées à des AAN (Regent *et al.*, 2009).

I.7. Mécanismes lésionnels des effecteurs auto-immuns

I.7.1. Lésions associées aux lymphocytes T

Les lymphocytes T sont plus responsables des lésions observées au cours des MAI que les auto-Ac, leur implication est démontrée par plusieurs faits, La présence d'infiltrats de LT au niveau des lésions de l'organe cible et l'association fréquente des MAI avec certaines molécules HLA-DR

et HLA-B ; sachant que la fonction des molécules HLA-DR est de présenter des Ag aux LT-CD4 et que la fonction des molécules HLA-B est de présenter des Ag aux LT-CD8, ces associations suggèrent évidemment une importance cruciale des LT. Les lymphocytes T exercent leur effet pathogène par plusieurs moyens : La cytotoxicité ; la libération des cytotoxines ; et l'activation des macrophages (Hugo, 2006).

Le diabète type 1 et la sclérose en plaques représentent deux prototypes de MAI majoritairement provoquées par des LT. Les modèles expérimentaux de diabète spontané de type 1 chez la souris *Non Obese Diabetic* ont démontré que la destruction des cellules bêta, caractéristique de la maladie humaine, est dépendante de la présence des LT CD4+ et CD8+. Un mécanisme lésionnel provoqué par des LT est également impliqué dans le développement de la sclérose en plaques chez l'Homme, et de l'Encéphalomyélite auto-immune expérimentale chez la souris. Il est toutefois important de rappeler que ces maladies peuvent s'accompagner aussi de la production d'auto-anticorps, par exemple l'Ac anti-insuline au cours du diabète. Les études de la physiopathologie de certaines MAI illustrent la complexité de ces maladies chez l'Homme et montrent que les modèles expérimentaux ne sont pas toujours le reflet exact de la maladie humaine (ASSIM, 2018).

I.7.2. Lésions médiées par les auto-anticorps

La preuve la plus éloquente du caractère pathogène des auto-Ac est la capacité de transférer la maladie par le sérum des malades atteints d'une MAI. Cette démonstration peut être faite, soit chez l'animal par le transfert passif du sérum à des animaux normaux, soit chez l'homme, par transfert transplacentaire des auto-Ac de classe G de la mère atteinte au fœtus (Hugo, 2006). Les mécanismes par lesquels les auto-Ac induisent des lésions cellulaires ou tissulaires sont :

- Induction d'une cytolyse de la cellule cible : Cette cytolyse peut être réalisée par l'activation du système du Complément. Au cours des anémies hémolytiques, les Ac fixés à la surface des érythrocytes activent la voie classique du complément ce qui aboutit à la formation du complexe d'attaque membranaire qui forme des pores dans la membrane du globule rouge et induit la lyse des hématies. La cytolyse peut aussi faire intervenir des cellules macrophagiques. Ces dernières peuvent fixer par leurs récepteurs du fragment Fc des IgG (FcγR) les cellules cibles recouvertes

d'auto-Ac spécifiques d'un Ag qu'elles expriment à leur surface, les phagocyter et enfin les détruire. La phagocytose des plaquettes par les macrophages au cours des thrombopénies auto-immunes illustre ce mécanisme. Enfin, le mécanisme de l'ADCC par les cellules NK peut aussi être mis en jeu. Elles s'activent *via* l'interaction entre leurs Fc γ R et les auto-Ac recouvrant les cellules cibles et libèrent des granules lysosomiaux, contenant de la perforine et des granzymes (sérine-estérases), qui induisent la mort de la cellule cible. Ce mécanisme interviendrait dans la destruction des cardiomyocytes au cours des myocardites (ASSIM, 2018).

- Modification de la fonctionnalité de l'antigène cible : Certains auto-Ac ont la capacité de se lier à des récepteurs membranaires et d'en modifier l'expression ou les fonctions biologiques. Dans la myasthénie, les Ac dirigés contre le récepteur à l'acétyle choline en fournissent l'illustration. Des cultures de lignées de cellules musculaires exprimant le récepteur à l'acétyle choline réalisées en présence de sérum de malades atteints de myasthénie ont montré que le pontage des récepteurs par les auto-Ac s'accompagne de leur internalisation et d'une augmentation de leur dégradation. Un second mode d'action de ces auto-Ac est le blocage par encombrement stérique de la liaison de l'acétylcholine à son récepteur. Ces modifications entraînent le défaut de transmission du signal synaptique qui caractérise la maladie (ASSIM, 2018).

Au contraire, dans la maladie de Basedow, les auto-Ac anti-récepteurs de la TSH (*Thyroïde Stimulating Hormon*) sont capables d'activer ces récepteurs et ainsi d'induire une hyperthyroïdie avec sécrétion accrue d'hormones thyroïdiennes. D'autres auto-Ac dits neutralisants, peuvent être enfin dirigés contre des Ag solubles dont les fonctions sont alors perturbées, c'est le cas des Ac anti-facteur intrinsèque dans la maladie de Biermer (ASSIM, 2018).

- Formation de complexes immuns : Les complexes Ag-Ac peuvent se former dans la circulation puis se déposer au niveau des tissus. Parfois, l'Ag se dépose en premier lieu dans les tissus avant d'être reconnu par les auto-Ac circulants. Ces mécanismes de formation de dépôt de complexes immuns *in situ* conduisent à l'activation du Complément et à la libération des anaphylatoxines (C3a et C5a) capables de recruter et d'activer les neutrophiles qui participent aux lésions inflammatoires. L'altération de la membrane basale glomérulaire au cours du LES constitue un bon modèle et peut être due à plusieurs mécanismes. Un mécanisme direct implique le dépôt et l'accumulation de complexes immuns suite à la fixation des auto-Ac sur l'ADN bicaténaire et les

constituants du nucléosome insérés dans la membrane basale des glomérules. Les Ac et le complément modifient les propriétés électrostatiques de la membrane basale avec pour conséquence la fuite de protéines du sérum dans les urines et la perte du pouvoir filtrant des glomérules (ASSIM, 2018).

I.7.3. Composante inflammatoire des MAI

De nombreux médiateurs chimiques interviennent à tous les stades de l'inflammation : amines vasoactives, monoxyde d'azote, protéases plasmatiques, protéines du système du complément, notamment C3a et C5a, facteurs de croissance et cytokines. Les cytokines ont un intérêt dans le développement des MAI car elles constituent depuis quelques années des cibles thérapeutiques de première importance. Ainsi, le traitement de la PR a été révolutionné il y a plus de 20 ans par l'introduction des agents biologiques comme les Ac monoclonaux ou récepteurs solubles pour bloquer les cytokines pro-inflammatoires comme le TNF- α (ASSIM, 2018).

I.8. Classification des maladies auto-immunes

La classification de certaines MAI est basée sur la physiopathologie et le type d'auto-Ac correspondants (Subra et *al.*, 2004). Elles sont divisées en deux grands groupes:

- MAI spécifiques d'organes, caractérisées par des lésions limitées à un tissu ou un organe, dues à une réponse immune dirigée contre un Ag dont la distribution est limitée à ce tissu.

- MAI non spécifiques d'organe ou dites MAI systémiques, dont la distribution des auto-Ag cibles est ubiquitaire et contribue au développement de la maladie avec des atteintes diffuses et polymorphes de différents organes au cours du temps (ASSIM, 2018).

I.8.1. Maladies auto-immunes spécifiques d'organes

I.8.1.1. Diabète de type 1

Le diabète de type 1 résulte de la destruction des cellules insulinosécrétrices β des îlots de Langerhans du pancréas. La survenue de la maladie chez des sujets exprimant des gènes codant pour des antigènes du CMH particuliers qui ont commencé d'être identifiés au début des années 70 et la caractérisation de LT activés contre des auto-Ag des cellules β en 1976 font du diabète une

MAI. Les mécanismes initiant l'activation des LT autoréactifs demeurent en revanche mal connus. L'hypothèse privilégiée assimile la réaction auto-immune anti-cellules β à une réaction immunitaire conventionnelle, postulant un événement initial déclenchant, par exemple infectieux. Un diabète auto-immun survient dans : 15-20% des mutations du gène AIRE et 70% des mutations de FoxP3 exprimé par les LT régulatrices (Johnson *et al.*, 2016).

I.8.1.2. Thyroïdites auto-immunes

Les maladies thyroïdiennes auto-immunes sont fréquentes et représentent 30% des MAI spécifiques d'organes et un large spectre de manifestations cliniques parfois totalement opposées telles que, l'hypothyroïdie ou thyroïdite de Hashimoto et l'hyperthyroïdie ou maladie de Basedow (Orgiazzi, 1999). Le seul élément commun à toutes ces formes de maladies est la présence d'infiltrat lymphocytaire intra-thyroïdien. Cet infiltrat est le plus souvent associé à de forts titres d'Ac circulants spécifiques d'auto-Ag thyroïdiens. Les principaux AAC antithyroïdiens sont les anticorps antithyroperoxydase, antithyroglobuline et antirécepteurs de la TSH. La prévalence de ces Ac est variable suivant les pathologies. Cette MAI intervient en général sur un terrain génétique prédisposé et peut être induite par des facteurs environnementaux (Charrié, 2005).

I.8.1.3. Hépatite auto-immune

L'hépatite auto-immune est une affection inflammatoire chronique du foie lié à une réponse immunologique dirigée contre les hépatocytes. Les lésions observées au cours des HAI sont le résultat de l'attaque des hépatocytes par des LT autoréactifs. C'est une maladie multifactorielle dans laquelle les facteurs génétiques et environnementaux interagissent pour déclencher et faciliter le développement du processus inflammatoire. La présence à la surface des hépatocytes d'HLA de classe II est l'un des facteurs de susceptibilité important dans le déclenchement de la maladie. Toutefois, d'autres facteurs de prédisposition interviennent, en particulier le sexe et l'âge. Il existe deux types de l'HAI ; type I et type II associés à la présence de certains AAC (Mieli-vergani, 2008).

I.8.1.4. Myasthénie

La myasthénie se caractérise par une faiblesse musculaire et une fatigabilité anormale à l'effort. C'est une MAI due à la présence des auto-anticorps dirigés contre des composants de la

membrane musculaire localisés au niveau de la jonction neuromusculaire. Dans la majorité des cas, il s'agit d'auto-anticorps dirigés contre le récepteur de l'acétylcholine (Eymard *et al.*, 2014).

I.8.1.5. Polyarthrite rhumatoïde

Bien que l'origine de la maladie reste inconnue, les connaissances de la pathogénie de la PR ont progressé de manière importante au cours des dernières années. Plusieurs facteurs interviennent dans le déclenchement de la maladie, notamment des facteurs environnementaux, un terrain génétique prédisposé et des facteurs hormonaux. Ces facteurs réunis activent une réponse immunitaire innée et acquise incontrôlée qui se traduit par une réaction inflammatoire exagérée, en particulier de la membrane synoviale. La synovite rhumatoïde est infiltrée par de nombreuses cellules comprenant principalement des LT CD4+, des LB et des macrophages qui s'organisent en agrégats lymphoïdes (Bernard, 2013).

I.8.2. Maladies auto-immunes non spécifiques d'organes

I.8.2.1. Lupus érythémateux systémique

Le LES est une maladie invalidante dont les causes restent inconnues. Elle affecte majoritairement les femmes dont neuf femmes par un homme, et débute surtout entre 15 ans et 45 ans (Amoura *et al.*, 2014). C'est une pathologie inflammatoire chronique et rare, caractérisée par la production excessive de divers Ac dont les plus spécifiques sont dirigés contre certains composants du noyau tels que l'ADNn (Eriksson *et al.*, 2011). Sur le plan clinique, elle peut être responsable d'une atteinte cutanée, articulaire, rénale, hématologique, cardiaque ou neurologique de plusieurs organes. Cette affection conduit à des expressions cliniques différentes d'un sujet à l'autre avec des poussées entre coupées par des périodes de rémission (Meyer, 2010).

I.8.2.2. Syndrome de Gougerot-Sjögren

Le SGS est une exocrinopathie auto-immune inflammatoire chronique de cause inconnue. Elle est souvent caractérisée par l'association d'une keratoconjonctivité et par une diminution de la sécrétion des glandes lacrymales, déterminant une xérophtalmie et par une réduction de la sécrétion des glandes salivaires, responsable d'une xérostomie, d'où la dénomination de syndrome

sec. L'électrophorèse des protéines sériques montrait une hypergammaglobulinémie polyclonale, et le bilan immunologique objectivait une positivité des AAN (Attia *et al.*, 2010). Le SGS est divisé en primaire ou secondaire. Ce dernier est associé aux collagénoses, telle qu'une PR, un LES, une connectivité mixte, une sclérodermie ou une polymyosite-dermatomyosite (Carvajal *et al.*, 2015).

I.8.2.3. Sclérodermie

La sclérodermie est une MAI du tissu conjonctif, touchant avec prédilection les femmes, essentiellement entre 40 et 60 ans. De rares cas ont été rapportés chez les sujets de moins de 20 ans (Magnant et Diot, 2006). Les lésions endothéliales diffuses représentent l'atteinte dominante avec libération de nombreux médiateurs responsables du déclenchement de phénomènes auto-immuns aboutissant à une production excessive de la matrice extracellulaire par les fibroblastes sous l'effet de facteurs de croissance et de cytokines, synthétisés par les LT, les cellules endothéliales et les fibroblastes (Allanore, 2016), et à la production d'une variété d'auto-Ac caractéristiques de la maladie. La sclérodermie est caractérisée par un polymorphisme clinique avec prédominance de l'atteinte cutanée, et plusieurs atteintes viscérales d'ordre fonctionnel ou organique dont certaines d'entre elles conditionnent le pronostic de la maladie (Daumas *et al.*, 2013).

I.8.2.4. Connectivité mixte

La connectivité mixte (ou le syndrome de Sharp) a été décrit initialement par G.C. Sharp (Sharp *et al.*, 1972). Elle est une maladie inflammatoire chronique qui se manifeste par des symptômes très variables d'une personne à l'autre et qui peut toucher tous les organes. Les principales manifestations sont des douleurs articulaires et musculaires, un gonflement des mains et des doigts et une grande fatigue. Dans certains cas, d'autres organes peuvent aussi être touchés (Harb *et al.*, 2004). Les connectivités rassemblent un certain nombre de syndromes dont l'étiopathogénie n'est que partiellement comprise, mais dont le point commun réside en une atteinte inflammatoire auto-immune d'un ou de plusieurs organes. Elle est caractérisée par un taux élevé d'auto-Ac dirigés contre des constituants du noyau cellulaire (Coughlin *et al.*, 2013).

Chapitre II.

Marqueurs biologiques des MAI

II.1. Auto-anticorps naturels et pathologiques

Les auto-Ac sont classés en deux catégories : naturels et pathologiques. Les auto-Ac naturels sont présents en plus grande abondance dans le sérum des individus jeune et sains. Ils possèdent certaines caractéristiques. Il s'agit essentiellement d'IgM, plus rarement d'IgG ou d'IgA. Ils sont polyréactifs, ce qui signifie qu'une même molécule d'Ac reconnaît plusieurs Ag et fréquemment des Ag du soi. Ils ont en règle générale une faible affinité pour l'Ag et sont produits de préférence par les LB humains CD5+. Leur concentration est faible, mais elle peut s'élever en cas d'activation polyclonale dans diverses maladies, en particulier les MAI ou qui comportent une composante immune. Les auto-Ac pathologiques sont produits en réponse à une stimulation antigénique persistante. Ils sont généralement de classe IgG, parfois IgA, leur concentration est élevée, et leur affinité pour l'Ag est plus élevée que celle des Ac naturels. Ils réagissent avec des épitopes multiples présents sur des domaines fonctionnels des auto-ag (Humbel, 1997).

Les Ac sont des caractéristiques biologiques mesurées et évaluées comme un indicateur soit d'un processus biologique normal ou pathologique (Tron *et al.*, 2014). Schématiquement, les auto-Ac t sont classés en cinq catégories utiles pour le diagnostic des MAI :

- Les Ac antinucléaires: retrouvés au cours des MAI non spécifiques d'organe;
- Les Ac anti-tissu ou anti-cellules : marqueurs des MAI spécifiques d'organe;
- Les Ac anti-IgG : les facteurs rhumatoïdes ;
- Les Ac anti-phospholipides : marqueurs du syndrome des anti-phospholipides;
- Les Ac anti-cytoplasme des polynucléaires : marqueurs de vascularites (Emile, 2017).

II.1.1. Rapport entre les auto-anticorps naturels et pathologiques

Le rapport entre les AAc naturels et pathogènes reste à définir. La première hypothèse propose que les auto-Ac pathologiques sont la conséquence d'une stimulation polyclonale incontrôlée des cellules autoréactives normales, ce qui entraîne une augmentation au-delà d'un seuil tolérable des auto-Ac. La deuxième hypothèse assume que les auto-Ac pathologiques sont la conséquence des mutations somatiques induisant la production d'un auto-Ac pathologique de forte affinité, ou les auto-Ac naturels et pathogènes sont produits par des clones B différents (Dighiero et Oppezzo, 2003).

II.2. Auto-anticorps antinucléaires

II.2.1. Définition

Les anticorps anti-nucléaires (en anglais : *Antinuclear Antibody*) ou parfois appelés facteur antinucléaire (FAN) ont été mis en évidence pour la première fois en 1957 dans le sérum de patients atteints d'un LES (Holborow et *al.*, 1957). Les AAN constituent un groupe hétérogène d'Ac de spécificité diverses. Ils sont des isotypes IgG et qui regroupent de nombreux AAC dirigés contre divers constituants du noyau des cellules : l'ADN, l'ARN et les constituants de la membrane nucléaire, du nucléole, du nucléoplasme, de la chromatine et de la matrice protéique (Beauvillain *et al.*, 2006 et Tron *et al.*, 2014). Dans le cadre des pathologies auto-immunes, les AAC seraient produits après activation des lymphocytes « B2 » autoréactifs, de forte affinité faisant intervenir une collaboration des LT-CD4 folliculaires auxiliaires (ASSIM, 2018).

Leur recherche a un intérêt dans le diagnostic du LES, la sclérodémie systémique, le SGS et la connectivité mixte, mais aussi dans des MAI spécifiques d'organes et parfois au cours de certaines maladies infectieuses comme le cas des infections virales (VIH, VHC, parvovirus B19, mononucléose infectieuse), des cancers, iatrogénie médicamenteuse ou inflammatoires et chez les sujets âgés (tableau 3). Les AAN sont divisées en plusieurs sous-groupes selon la spécificité :

- Les Ac spécifiques d'acides nucléiques et de nucléoprotéines. Ils sont représentés par les Ac anti-ADNn et anti-ADNsb, Ac anti-ARN, les Ac anti-histones, et les Ac anti-nucléosomes ;
- Les Ac spécifiques d'antigènes nucléaires solubles : comme certaines ribonucléo-protéines (anti-Sm, anti-U1RNP, anti-RNP, anti-Ro/SSA et anti-La/SSB) ;
- Les Ac dirigés contre des constituants du nucléole : Sc170, PMScl ;
- Les Ac dirigés contre des constituants du centromère.

Certaines structures cytoplasmiques issues du noyau sont également rattachées aux AAN comme les ARNt synthétases ou des ribonucléoprotéines cytoplasmiques. La sensibilité des AAN est élevée, mais leur spécificité est faible (Emile, 2017).

Tableau 01. Pathologies pouvant être associées à des anticorps antinucléaires (Emile, 2017).

| | Maladies | Pourcentage (%) |
|---|------------------------------|------------------------|
| MAI systémiques | LES | 90-95 % |
| | SGS | 55 % |
| | Sclérodermies systémiques | 50 % |
| | Dermatomyosites | 25 % |
| | connectivités mixtes | 100 % |
| MAI spécifiques d'organes | Hépatite auto-immune | 70 % |
| | Fibrose pulmonaire | 50 % |
| | Myasthénie | 50 % |
| | Polyarthrite rhumatoïde | 45 % |
| Cancer | Leucémie lymphoïde chronique | 13 % |
| Chez les sujets âgés (> 60 ans) | | 20 % des cas |
| Chez les sujets sains | | 5-10 % des cas |
| Au cours d'infections (VIH, parvovirus B19....etc) | | 40 % des cas |

II.3. Anticorps spécifiques d'acides nucléiques et de nucléoprotéines

II.3.1. Anticorps anti-ADN natif

L'ADN est considéré comme une molécule antigénique à déterminants multiples liés non seulement à sa composition chimique, mais aussi à la configuration de la molécule. Il existe au moins trois types d'Ac anti-ADN. Ceux du premier type fixent exclusivement l'ADN bicaténaire dans sa forme native. Ils sont très rares et quasi spécifiques du LED. Le seconde type d'Ac se fixe aussi bien sur l'ADN bicaténaire que l'ADN monocaténaire. L'épitope est vraisemblablement situé sur le squelette de phosphodésoxyribose ces Ac sont également spécifiques du LES. Enfin, le troisième groupe d'Ac ne réagit qu'avec l'ADN monocaténaire. La cible est constituée par les bases puriques et pyrimidiques. Ces Ac dits anti-ADN simple brin, ne sont absolument pas spécifique du lupus puisque on peut les trouver dans de nombreuses maladies en particulier les infections virales (Humbel, 1997). Ils sont observés dans plus de 50 % des cas de lupus induit par médicaments, dans

les autres connectivites, les syndromes inflammatoires de toutes étiologies, ainsi que chez les personnes âgées en dehors de toute maladie (Dueymes *et al.*, 2007).

II.3.2. Anticorps anti-histones

Les histones sont des protéines basiques riches en arginine et en lysine, qui avec la double hélice d'ADN constituent la majeure partie de la chromatine. Il existe 5 différentes classes d'histones (H1, H2B, H2A, H3 et H4). Des Ac contre les différentes classes d'histones ont été décrits chez 80% des patients avec un LES, mais ne sont pas limités à cette maladie. Ces derniers sont présents chez plus de 95% des patients qui ont un lupus d'origine médicamenteuse (Dueymes *et al.*, 2007).

II.3.3. Anticorps anti-nucléosomes

Certains auto-Ac reconnaissent les structures formées par l'ADNn et les histones, c'est-à-dire les nucléosomes. Ils sont dirigés exclusivement contre les nucléosomes ou les sous-complexes nucléosomiques et possèdent une faible réactivité envers les histones et l'ADNn. Des Ac anti-nucléosomes sont détectés chez environ 85 % des patients lupiques (Dueymes *et al.*, 2007).

II.4. Anticorps spécifiques d'antigènes nucléaires solubles

Les anticorps anti-ENA pour *Extractable Nuclear Antigens*, ou anti-ECT pour Extraits Cellulaires Thymiques reconnaissent des protéines non basiques et relativement solubles dans les tampons salins. Ces protéines solubles sont liées à des petits ARN riche en uridine présents dans le nucléoplasme, le nucléole mais aussi dans le cytoplasme.

II.4.1. Anti-Smith

Les anticorps anti-Sm dénommés d'après Ms. Smith ont été décrits sont détectés chez 5 à 30% des patients avec un LES, donc ils sont très spécifiques de ce type des MAI. Les Ac anti-Sm présentent une famille de protéines associées à différentes chaînes d'ARN, ils ont pour cible des protéines faisant partie d'un sous-groupe de ribonucléoprotéines (Caquet *et al.*, 2008).

II.4.2. Anticorps anti-U1RNP

Les anticorps anti-RNP ont été identifiés par Sharp en 1971 par immunodiffusion dans le sérum de patients atteints de connectivité mixte, dont ils constituent le marqueur sérologique. Ils reconnaissent le polypeptide de 70 kDa de la molécule de U1RNP et les déterminants A et C de la protéine. Les molécules Sm et U1RNP interviennent dans l'épissage des ARN pré-messagers au cours du processus de synthèse des protéines. Ils observés dans 25 à 30 % de LES, on peut les détecter au cours de la PR, de la sclérodémie systémique diffuse, des myosites, et même dans le lupus induit par les médicaments. (Dueymes *et al.*, 2007).

II.4.3. Anticorps anti-Ro/SSA et anti-La/SSB

La première description des anti-Ro/SSA et de l'anti-La/SSB remonte à 1962. Le complexe Ro/La est constitué de trois protéines différentes (Ro de 52 kD, Ro de 60 kD et La de 48 kD) et de petits ARN (Y1, Y2, Y3, Y4 et Y5) synthétisés dans le noyau sous le contrôle d'une ARN polymérase III, dont le rôle est peu clair. Les SSA-60 et SSA-52 sont appendus à l'extrémité 5' et SSB-48 est appendu à l'extrémité 3'. Les Ac anti-Ro/SSA sont retrouvés dans le SGS primitif avec la plus grande fréquence de 60 à 95 % (Dueymes *et al.*, 2007). Mais ils sont retrouvés aussi chez 10 à 60% des patients avec un LES. De plus, environ 50% des patients présentant un LES avec des Ac anti-Ro/SSA ont également des Ac anti-La/SSB. Fait important à retenir, les patientes en grossesses présentant des anti-Ro/SSA ou anti-La/SSB peuvent se compliquer d'un lupus néonatal qui est une MAI transférée passivement de la mère au fœtus (Reichlin *et al.*, 2008).

II.4.4. Anticorps anti-Scl-70

Les anticorps anti-Scl-70 ou anti-topoisomérase I sont découverts chez des patients atteints de sclérodémie. L'Ag cible a été identifié comme de l'ADN topo-isomérase I qui sous sa forme native, a un poids moléculaire de 100 kDa avec un produit de dégradation de 70 kDa. La topoisomérase I est une protéine associée à la matrice nucléaire dans le nucléoplasme, localisée également dans le nucléole et dans les régions d'organisation du nucléole (NOR). La fonction de la topoisomérase I est de relaxer ou décompacter la chromatine faite d'ADN de sa structure super-enroulée en une structure détendue. Cette relaxation permet aux ARN polymérases d'accéder aux

séquences à transcrire, ce qui correspond au début de la transcription. L'Ag paraît donc jouer un rôle important dans la réplication de l'ADN. Les Ac anti-topoisomérase I sont plutôt de type IgG et IgA (Hildebrandt *et al.*, 1990). Ils sont très rarement retrouvés chez des patients avec une autre connectivite ou chez des sujets sains. Ils sont associés au syndrome de CREST qui est à la forme cutanée limitée de la sclérodémie systémique (Renaudineau et Younioun, 2006).

II.4.5. Anticorps anti-centromère

Avant de se diviser, la cellule voit doubler ses chromosomes par réplication de l'ADN. Le centromère est la zone du chromosome au niveau de laquelle les deux chromosomes frères restent attachés pendant la mitose avant de se séparer. Il existe à ce niveau une structure appelée kinétochore qui permet l'arrimage des chromosomes sur les fibres du fuseau mitotique pour permettre leur migration vers les deux pôles de la cellule. Les ACA, qui devraient plutôt être appelés anti-kinétochore, reconnaissent différentes protéines de cette structure (Dueymes *et al.*, 2007). Ils sont très spécifiques du syndrome de CREST (Reveille *et al.*, 2003).

II.4.6. Anticorps anti-Jo-1 et autres anticorps antisynthétase

Le système d'anticorps anti-Jo-1 a été décrit pour la première fois en 1980 par Nishikai et Reichlin dans le sérum d'un patient présentant une polymyosite et une fibrose pulmonaire interstitielle, qui se prénommaient John d'où le nom d'anti-Jo-1, ces Ac sont dirigés contre les aminoacyl-t-RNA-synthétases qui connectent chaque acide aminé à son ARN-t (Zampieri *et al.*, 2005). Ils sont très spécifiques des myosites, mais peuvent parfois être mis en évidence chez des sujets sains ou ayant une atteinte pulmonaire isolée. Jusqu'à présent, des auto-Ac contre six synthétases ont été décrits dans 10 à 30% des polymyosites, mais le plus fréquemment détecté reste l'Ac anti-Jo-1 dirigé contre l'histidyl-t-RNA synthétase. Les autres anticorps antisynthétase sont moins fréquents, ils sont : anti-PL-7, anti-PL-12, anti-EJ, anti-OJ et anti-KS respectivement dirigés contre les t-RNA synthétases des acides aminés suivants : thréonine, alanine, glycine, isoleucine et asparagine (Benveniste *et al.*, 2007).

II.4.7. Anticorps anti-PM/Scl

Il reconnaît des antigènes solubles du noyau constitué de 11 protéines de poids moléculaire de 20 à 110 kDa. Leur dénomination traduit un chevauchement entre des signes de myosite et des signes de sclérodermie, avec un risque élevé d'atteinte rénale.

II.4.8. Anticorps anti-Ku

Ces auto-Ac reconnaissent une protéine dimérique non histonique associée à la chromatine de 70 à 80 kDa. Comme les anti-PM/Scl, ils sont fréquemment rencontrés dans les syndromes de chevauchement entre polymyosite et sclérodermie systémique (Humbel, 1997).

II.4.9. Anticorps anti-PM1

Ils sont présents dans 60% des polymyosites, 17% des dermatopolmyosites, et 85% des polymyosites associées à une sclérodermie. En dehors des chevauchements avec la sclérodermie, cet auto-Ac ne permet pas de définir une forme clinique particulière de polymyosite (Weill, 2003).

II.4.10. Anticorps anti-PCNA

L'antigène PCNA (*Proliferating Cell Nuclear Antigen*) est une protéine de 36 KD identifiée comme une protéine auxiliaire d'un ADN polymérase delta, cet anticorps est rare. Il est présent chez moins de 5% des sujets lupiques. Ils caractérisent aussi les LED avec atteinte rénale grave et atteinte neurologique (Weill, 2003).

Chapitre III.
Recherche des auto-anticorps
dans les MAI

III.1. Stratégie de la recherche des AAN

La recherche des auto-Ac est un examen très régulièrement utilisé dans les situations cliniques peu claires dans lesquelles les médecins suspectent certaines MAI. Le dosage des différents AAN constitue un élément diagnostique fondamental pour les MAI en complément d'autres examens médicaux et de l'auscultation du patient. Différentes techniques sont utilisées pour leur recherche. Elles consistent à visualiser l'interaction entre l'Ac et son Ag cible à l'aide d'un Ac anti-Ig humaine marqué par un fluorochrome, une enzyme, un isotope radioactif ou un luminogène. La sensibilité et la spécificité des différents tests utilisés pour la détection des AAc peuvent varier passablement d'une étude à l'autre, et ce pour plusieurs raisons : il n'y a pas de standardisation internationale des méthodes de détection et les valeurs normales peuvent varier selon les populations étudiées (Humbel, 2016).

Actuellement plus de 200 AAc sont décrits. En pratique courante, une stratégie est adoptée pour rechercher les auto-Ac (Saraux, 2013). Elle se fait soit en une étape consistant à la recherche et l'identification directe de la spécificité de l'AAc, soit en deux étapes avec un test de dépistage par l'IFI, puis si le dépistage des AAN est positif, il sera suivi d'une technique d'identification des cibles antigéniques (ENA) telle que l'ELISA (figure 06) (Emile, 2017).

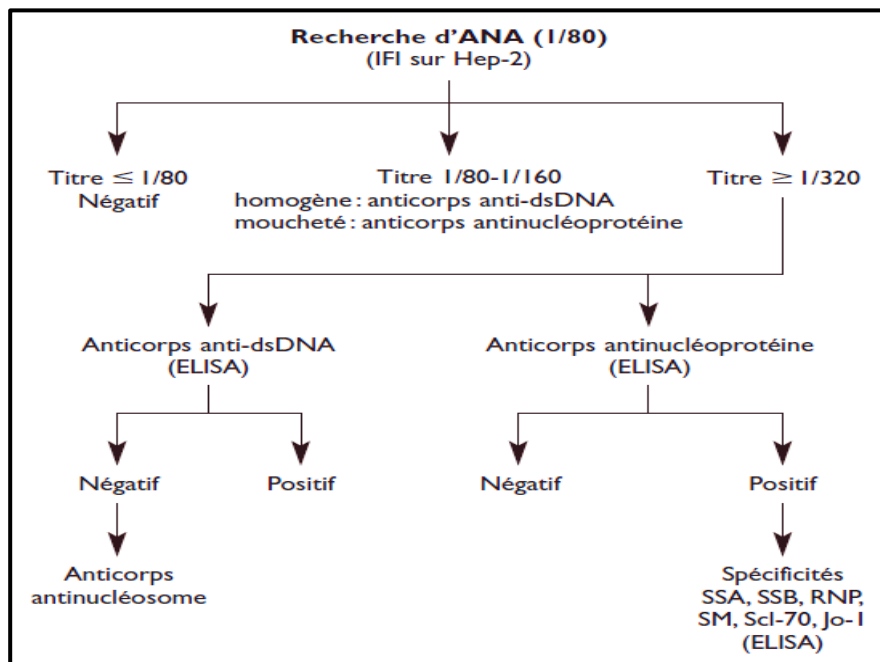


Figure 06. Démarche de la recherche des AAN (Petitpierre *et al.*, 2009).

III.2. Techniques de dépistage

III.2.1 Immunofluorescence Indirecte

C'est la technique sérologique la plus utilisée en routine pour le dépistage des auto-Ac car elle permet la mise en évidence d'un grand nombre d'entre eux et utilise les propriétés de la réaction Ag/Ac. Cette technique étudie la fixation des AAN du sérum sur des lames qui contiennent les noyaux des cellules HEp-2 qui sont dérivées d'une lignée tumorale de cellules épithéliales humaines et possédant de gros noyaux et de gros nucléoles et permettant une bonne visualisation des structures nucléaires reconnues par les Ac du patient. De plus, ces cellules étant tumorales; elles offrent l'avantage de présenter de multiples mitoses utiles à l'interprétation et à l'identification d'Ac particuliers présents à certaines phases du cycle. Son principe consiste à l'incubation des lames sur lesquelles ont été cultivées les cellules HEp-2 avec le sérum du patient à des dilutions croissantes (Albarède *et al.*, 2009; Madsen *et al.*, 2010). Les Ac fixés sur ces cellules sont ensuite révélés grâce à un conjugué anti-IgG humaine couplé à un fluorochrome ; le plus souvent l'isothiocyanate de de fluorescéine, la phycoérythrine ou la rhodamine. Les fluorochromes sont des substances qui ont pour propriétés d'émettre une fluorescence dans le visible lorsqu'ils sont excités par une lumière dans les longueurs d'onde de l'ultraviolet. La lecture des lames se fait à l'aide d'un microscope à fluorescence (Goetz *et al.*, 2005).

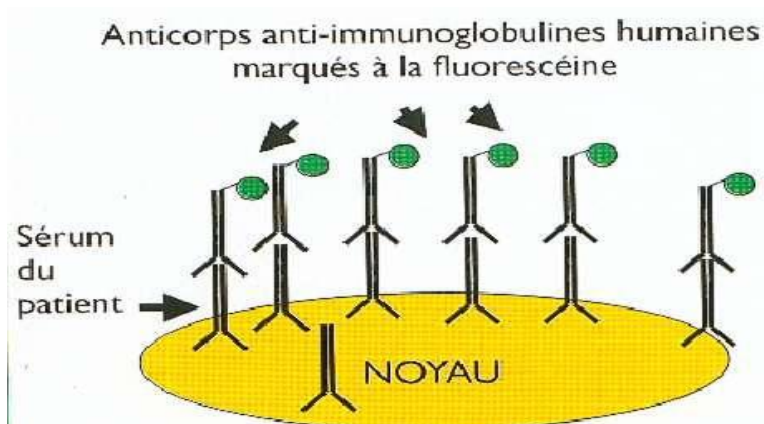


Figure 07. Anticorps anti-Ig humaines marqués à la fluorescéine (Liu et Wang, 2014).

Le titre en anticorps correspond à l'inverse de la dernière dilution du sérum donnant encore une fluorescence positive dont la limite de positivité des AAN dans la plupart des laboratoires est

la dilution 1/80 (Musset, 1999). Si le sérum révèle des AAN qui sont dépistés à un seuil de 1/80, il sera testé à différentes dilutions poursuivies jusqu'à l'extinction de la fluorescence (Albarède *et al.*, 2009). Le test AAN est considéré comme négatif si on n'observe pas d'image ou de fluorescence et positif si on observe une fluorescence spécifique avec une image clairement distincte. En cas de résultat positif, le titre d'AAN correspond à la dilution du sérum à laquelle la fluorescence disparaît (Humbel, 1997).

En cas de suspicion de connectivites, l'IFI sera utilisée en première intention pour la recherche des anti-nucléocytosomiques. Différents aspects de fluorescence détectant des AAN sont décrits et correspondent à différents Ag nucléaires associés à différentes connectivites (Bas, 2005). La fluorescence observée peut avoir différents aspects (figure 08) :

- Aspect homogène : Le noyau se colore uniquement de façon homogène La fluorescence des cellules au repos est uniforme et la chromatine des cellules en division est positive. Le plus souvent, il s'agit d'Ac anti-ADN natif, mais leur spécificité doit être confirmée.
- Aspect moucheté : Il est principalement donné par les anticorps anti-ECT. Il existe plusieurs types, mais les principaux sont :
 - Mouchetée à gros grains : Points de fluorescence de taille moyenne uniforme répartis dans tout le noyau avec des bords nucléaires distincts.
 - Moucheté à grains fins : Nombreux petits points de fluorescence uniformes et répartis dans tout le noyau avec des bords nucléaires distincts.
- Aspect nucléolaire : La fluorescence des nucléoles peut donner aussi un aspect homogène
- Aspect centromère : Les Ac anti-centromères montrant une fluorescence de la plaque équatoriale en métaphase.
- Fluorescence périphérique : Le noyau se colore principalement à sa périphérie.

Notons qu'il n'est pas rare d'observer des aspects mixtes mêlant plusieurs types de fluorescence: Fluorescence mixte nucléolaire et homogène, Fluorescence mixte moucheté et nucléolaire ou Fluorescence mixte moucheté et homogène (Emile, 2017). L'aspect de la

fluorescence permet d'orienter le diagnostic, car il évoque un ou plusieurs antigènes cibles et une ou plusieurs pathologies associées (tableau 02).

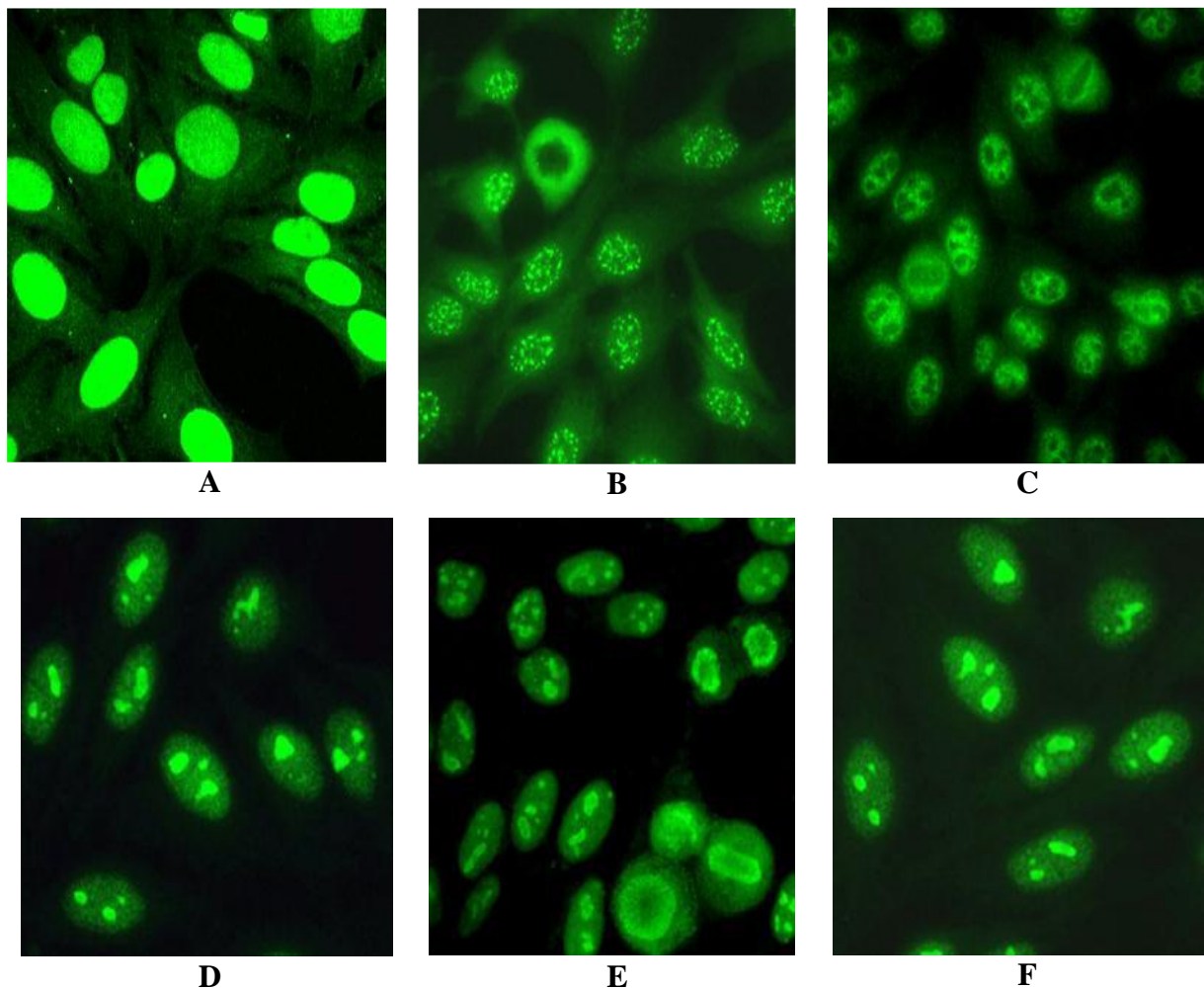


Figure 08. Différents aspects de fluorescence : Fluorescence d'aspect homogène (A). Fluorescence d'aspect mouchetée à gros grains (B). Fluorescence d'aspect mouchetée à grains fins (C). Fluorescence mixte nucléaire homogène et nucléolaire (D). Fluorescence d'aspect nucléolaire (E). Fluorescence nucléaire mixte mouchetée et nucléolaire (F) (Chakar, 2015).

Le choix de la dilution initiale pour le dépistage des AAN dépend principalement du substrat et de la méthodologie utilisée. Sur cellules HEP-2, la dilution 1/80e est recommandée, mais une dilution plus faible au 1/40e peut être préconisée dans certains cas, en particulier chez l'enfant. Un phénomène de zone peut exister et bien qu'il soit exceptionnel, il faut savoir poursuivre les dilutions devant des manifestations cliniques évocatrices. Toutefois, un titre faible en AAN (1/80) dans un contexte clinique évocateur conserve une valeur diagnostique forte même si cette situation

est peu fréquente. À l'inverse, un titre faible (1/80 ou 1/160) considéré isolément peut conduire à des erreurs diagnostiques graves. Trois notions sont importantes pour l'interprétation des résultats de l'IFI, l'aspect de la fluorescence qui dépend de la nature et la localisation des antigènes reconnus, le seuil de positivité des résultats et le titre en anticorps (Musset, 1999).

Dans la plupart des laboratoires le taux d'AAN est considéré comme significatif à partir d'un titre supérieur à 1/160e. Parfois, l'image de la fluorescence est fortement évocatrice et oriente vers une population d'auto-Ac bien définie sans recourir à d'autres analyses. Le plus souvent, l'aspect de la fluorescence va orienter les examens complémentaires; sachant toutefois qu'une fluorescence homogène peut masquer des images de fluorescence (Saraux, 2013).

L'interprétation d'un titre faible (≤ 80) se fait selon la clinique et l'âge du patient. En effet, dans l'interprétation du résultat des AAN, il faut mentionner qu'une positivité de ces derniers est fréquemment retrouvée chez des individus en bonne santé, habituellement à des titres peu élevés. Selon une étude sur une population de sujets sains de 20 à 60 ans des AAN positifs ont été mis en évidence chez 32% des individus à une dilution de 1/40, 13% à une dilution de 1/80, 5% à une dilution de 1/160 et 3% à une dilution de 1/320 (Tan *et al.*, 1997). De plus, la prévalence augmente avec l'âge, particulièrement chez les femmes ce qui fait que 10-15% des individus sains de plus de 65 ans ont des AAN positifs, en général à une dilution inférieur ou égal 1/160 (Lyons *et al.*, 2005). Alors qu'un résultat positif à un titre supérieur ou égal à 1/160 nécessite l'analyse des spécificités Ac anti-ADN natif et anti-ENA (Emile, 2017).

Toutefois, il existe quelques limites à cette technique; la fluorescence peut être très faible pour certains Ac ou variable selon les préparations commerciales et l'interprétation est difficile en présence de plusieurs auto-Ac. De plus, certains auto-Ac ne sont pas mis en évidence par IFI alors que d'autres sont détectés uniquement par IFI. Enfin, pour de nombreux auto-Ac détectés en IFI, il n'existe pas de techniques d'identification (Emile, 2017). Actuellement la recherche des AAN par l'IFI sur cellules HEP-2 a été de remplacer par l'ELISA automatisée utilisant des cupules recouvertes d'un extrait total de noyaux cellulaires ou d'un mélange d'antigènes purifiés ou recombinants (Humbel, 2000).

Tableau 02. Principaux auto-anticorps antinucléaires évoqués en fonction de l'aspect de la fluorescence sur cellules Hep2 (Arsène et Olivier, 2012 ; Goetz, 2012).

| Aspect de fluorescence | Spécificité évoquée | MAI associée |
|------------------------|----------------------|---------------------|
| Homogène | Anti-ADN natif, | Lupus |
| | Anti-histones, | Lupus induit |
| | Anti-nucléosomes | Lupus |
| Moucheté à gros grains | Anti-Sm / Anti-snRNP | Lupus |
| Moucheté à grains fins | Anti-SSA, Anti-SSB | Syndrome de Sharp |
| | Anti- Scl70 | Syndrome de Sjögren |
| | | Sclérodémie diffuse |
| Nucléolaire | Anti-Scl70 | Sclérodémie diffuse |
| | Anti-PM/Scl | Scléromyosite |
| | Anti-ARNpolymérase I | |
| Centromère | Anti-centromère | Syndrome de CREST |

III.2.2. DNA *Crithidia luciliae*

C'est un test de détection indirecte des Ac immunofluorescents qui utilise comme substrat les *Crithidia luciliae* hémoflagellées. Cet organisme est un trypanosome flagellé, parasite de la mouche et non pathogène chez l'homme. Il contient un volumineux noyau et un kinétoplaste contenant l'ADNdb. Cette méthode est utilisée au fil des ans pour la détection des Ac anti-ADN db. L'avantage principal du test sur les *Crithidia luciliae* est sa spécificité, en raison de la nature de la masse circulaire fortement spiralée d'ADNdb dans le kinétoplaste. Cette caractéristique est extrêmement importante pour un test de détection des Ac (Launay *et al.*, 2010).

III.3. Techniques d'identification

La recherche et l'identification des auto-Ac sont réalisées le plus souvent par des techniques immuno-enzymatiques dont les performances analytiques varient selon l'Ag utilisé, la nature des nombreux réactifs commerciaux utilisés et selon les conditions techniques. L'ELISA, l'Immuno-

dot et la fluorimétrie en flux sont de plus en plus automatisées et des panels d'Ac sont proposés. La chimiluminescence présente l'avantage d'être rapide et de pouvoir être utilisée au coup par coup. La radio-immunologie reste employée pour certains anticorps très particuliers (Emile, 2017).

III.3.1. Enzyme-linked immunosorbent assay

La technique repose sur un dosage dans lequel un des réactifs (l'Ag ou l'Ac) est adsorbé sur un support. La révélation de la réaction Ag-Ac est possible grâce au marquage du réactif libre par une enzyme. De nombreuses enzymes ont été employées pour l'ELISA y compris la phosphatase alcaline, la peroxydase de raifort et l' α -galactosidase. De nombreuses variantes d'ELISA ont été développées permettant la détection qualitative ou la mesure quantitative d'un antigène ou d'un anticorps. Il existe 3 types d'ELISA :

- ELISA indirecte : L'échantillon contenant un anticorps primaire (Ac1) est déposé dans des puits d'une plaque de microtitration dont l'Ag est adsorbé, un second anticorps (Ac2) anti-isotype conjugué à une enzyme est ajouté, l'Ac2 se lie à l'Ac1; après lavage le substrat de l'enzyme est ajouté. La quantité de produit coloré est mesurée par un lecteur de plaque spectrophotométrique approprié.

- ELISA sandwich : Dans ce type d'ELISA, l'Ac est immobilisé dans un puits de microtitration. Un échantillon contenant l'Ag est ajouté. Après lavage un second Ac lié à une enzyme spécifique d'un épitope différent de l'Ag est ajouté ; il réagit avec l'antigène lié, après lavage le substrat est ajouté et le produit de la réaction coloré est mesuré.

- ELISA compétitif : L'Ac1 est tout d'abord incubé en solution avec un échantillon contenant l'Ag. Le mélange Ag-Ac1 est ensuite déposé dans un puits de microtitration où est absorbé l'Ag. Plus il y a d'Ag présent dans l'échantillon, moins d'Ac1 libre sera disponible pour se lier au puits où est absorbé l'Ag. L'addition d'un Ac2 conjugué à un enzyme spécifique de l'isotope de l'Ac1 peut être utilisée pour déterminer la quantité d'Ac primaire liée au puits. Cependant, dans le dosage compétitif plus la concentration de l'Ag est élevée dans l'échantillon original, plus l'absorbance est faible (Kuby, 2008).

Les tests ELISA sont les plus sensibles, longtemps considérés comme peu spécifiques car ils détectaient les anticorps anti-ADNn de faible spécificité. En effet, les techniques se sont actuellement améliorées avec la détection spécifique d'IgG anti-ADNn de forte affinité, plus spécifiques du LES. C'est la technique de routine la plus souvent pratiquée (Selmi *et al.*, 2016). L'avantage des tests ELISA est l'élimination du facteur subjectif lors de la détermination. L'inconvénient de cette méthode est la présence d'une contamination minimale avec des antigènes supplémentaires provoquant des résultats faussement positifs (Kątnik-Prastowska, 2009).

III.3.2. Immunodot

La technique de l'Immunodot pour la recherche des Ac a été introduite en 1982 par Paul Herbrinck *et al.*, sous l'appellation d'AST ou *Antigen Spot Test*. Les protéines sont directement appliquées sur des bandelettes sous forme de spots pour former des dots. Le dépôt des Ag peut se faire sous forme d'une petite tache ronde (dot-spot) ou en ligne fine (dot-line). La matrice doit avoir une bonne affinité pour les Ag et une bonne capacité d'adsorption. La fixation est rapide, voire instantanée, ce qui réduit le risque de dénaturation des Ag. Une des préoccupations essentielles est d'adsorber l'Ag en le concentrant au centre du dépôt sans diffusion latérale. Plusieurs Ag différents peuvent être déposés sur la même membrane permettant la détection simultanée de nombreux Ac différents. Une fois séchée, la membrane est saturée par des agents bloquants et stabilisants puis conservée à l'abri de l'humidité. Ces Ag alors situés à la surface de la membrane peuvent se complexer avec leurs Ac spécifiques par incubation avec le sérum. Les Ac capturés sont localisés par immuno-détection à l'aide d'un antiserum marqué par une enzyme et révélés par le substrat correspondant. La lecture des résultats par simple appréciation visuelle de la coloration fournit des résultats qualitatifs, à la limite semi-quantitatifs si l'on tient compte de l'intensité de la coloration. Il existe également la possibilité d'analyser les bandelettes à l'aide d'un scanner qui mesure l'intensité de coloration des spots ou des bandes permettant ainsi une évaluation quantitative (Humbel, 2005).

III.3.4. Autres méthodes

Les performances de ces méthodes sont également tributaires de la nature et de la qualité des sources antigéniques utilisées tout comme de leur environnement technique propre.

- Test de FARR : Le test de Farr est une technique de dosage radio-immunologique quantitative qui consiste à incuber l'ADN radiomarqué avec le sérum du patient. Les complexes ADN Ac anti-ADN sont ensuite précipités par le sulfate d'ammonium ou le polyéthylène glycol. L'ADN non lié reste en solution. La radioactivité présente dans le précipité est directement proportionnelle à la quantité des complexes immuns présents dans le sérum (Musset, 1999). Ce test détecte les Ac anti-ADN de forte affinité et principalement d'isotype IgG ; ces AAc ont une importante agressivité pour le rein et sont associés à des formes graves de LES. Il reste la technique de référence, mais n'est plus réalisé que dans quelques laboratoires car il nécessite des conditions techniques très rigoureuses en raison, notamment du risque de dénaturation de l'ADN, des installations dédiées et un agrément pour la radio-immunologie (Emile, 2012).
- Fluorimétrie en flux : Il s'agit d'un système analytique multiplex (technologie MAP® : *Multiple Analyte Profile*). Il repose sur trois éléments principaux : un support solide constitué de microbilles, des marqueurs fluorescents et un fluorimètre en flux. Le support analytique est représenté par des microbilles en polystyrène de 5,6 mm de diamètre. Les fonctions carboxyliques de ces billes permettent de fixer de façon covalente différents types de molécules porteuses de groupements aminés : Ag, Ac, acides nucléiques ou autres types de récepteurs ou de ligands (Olsson, 2005).
- Chimiluminescence : La mesure de la lumière produite par chimioluminescence lors des réactions chimiques apporte une alternative commode et très sensible aux mesures par absorption dans les dosages par ELISA. Dans les versions d'ELISA utilisant la chimioluminescence, un substrat luxogène remplace le substrat chromogène des réactions conventionnelles d'ELISA. La lumière produite pendant la réaction luxogène peut être détectée par exposition d'un film photographique. Une quantification de la lumière émise peut être réalisée avec un luxomètre (Kuby, 2008).

III.4. Importance de l'antigène utilisé

La nature de l'Ag utilisé est très importante, trois types sont généralement employés :

- Antigènes naturels : Ils sont obtenus par extraction de tissus humains ou animaux. C'est le cas pour les préparations de nucléosomes, d'ADN, d'histones et RNP. De nombreux auto-Ag sont constitués de complexes multimoléculaires au sein desquels se trouvent les composants

antigéniques. La molécule native du complexe peut présenter des épitopes spécifiques liés à l'association avec certains constituants. Le nucléosome présente un épitope formé par l'association de l'ADN et des histones. La nature et la configuration moléculaire de l'Ag sont des éléments majeurs pour la réaction avec l'auto-Ac. Certains AAc ne reconnaissent que des déterminants antigéniques conformationnels. La dénaturation ou la déformation de la molécule conduisent à la perte de reconnaissance de l'Ag par les Ac. Mais, c'est surtout le procédé d'immobilisation de l'antigène sur les surfaces solides qui peut entraîner des modifications structurales.

- Antigènes recombinants : Les Ag recombinants sont de plus en plus utilisés pour la recherche des AAc, ils sont obtenus par génie génétique, malgré leur pureté et ne sont pas totalement identiques aux Ag naturels. Les protéines exprimées par le système procaryote ne subissent pas de repliement moléculaire ni de modifications post traductionnelles. Le système d'expression sur cellules eucaryotes permet de produire des protéines structurellement de meilleure qualité. Ils ne peuvent cependant pas remplacer dans tous les cas les molécules natives.

- Antigènes de synthèse : Ils sont également utilisés dans certains tests. Il s'agit surtout de peptides synthétiques formés par de courtes séquences d'acides aminés correspondant à la région antigénique immuno-dominante (Humbel, 2016).

III.3. Intérêt pratique des anticorps antinucléaires

La plupart des MAI systémiques sont caractérisées par des AAc dont la valeur du diagnostic (spécificité et sensibilité) est variable (Bahon-Riedinge *et al.*, 2002). Si la recherche des AAN s'avère positive, elle oriente le médecin vers le diagnostic de certaines MAI et en élimine d'autres, donc, la nature des AAN le renseigne ensuite sur le type de pathologie. D'autres examens complémentaires spécifiques et la nature des symptômes ressentis par le patient sont ensuite analysés pour confirmer le type de la MAI et son importance. En effet, une personne peut avoir des AAN circulant dans le sang sans avoir aucun symptôme ni aucune maladie. À l'inverse, certains individus atteints de MAI peuvent présenter un dosage négatif. Alors que la présence d'ANA positifs sans clinique évocatrice d'une MAI a une valeur prédictive très basse. Toutefois, le titre des AAN a une certaine importance étant donné que des titres élevés corréleront mieux avec la présence d'une MAI. Lorsque le titre est supérieur à 1/1280, on trouve dans la majorité des

échantillons testés, des anticorps spécifiques d'une pathologie auto-immune en plus des AAN (Bagnasco *et al.*, 2007).

L'absence d'AAc en présence d'une MAI peut être due à des Ac non détectables en IFI, des images insuffisamment typiques en IFI, des Ac plus rares ou d'un déficit en immunoglobulines. De fait, l'absence d'auto-Ac n'exclut pas le diagnostic de MAI devant un tableau clinique évocateur. La découverte d'auto-Ac non prescrits doit être signalée; il peut s'agir d'une pathologie débutante ou bien correspondre à la présence d'une immunoglobuline monoclonale à activité auto-Ac (Emile, 2017).

Ces AAN n'ont pas une spécificité de diagnostic absolue, mais certains d'entre eux, comme les anti-Sm, les anti-SSA et anti-SSB sont exclusivement observés au cours des MAI (Büttner *et al.*, 2009). Certains d'entre eux peuvent avoir une valeur pronostique, comme par exemple les anti-ADNn et les anti-nucléosomes associés à des formes sévères de lupus avec atteinte rénale, les anti-Scl 70 associés à des sclérodermies compliquées de fibroses pulmonaires (Castro *et al.*, 2010) et d'autres AAN peuvent constituer un élément du suivi thérapeutique dans certaines pathologies et jouent le rôle bons indicateurs de l'évolution de traitement. Ils peuvent être également prédictifs de facteurs de risque (Atouf *et al.*, 2012).

Quoi qu'il en soit, un auto-Ac considéré isolément n'a aucune valeur diagnostique absolue même si certains AAc sont plus spécifiques d'une maladie, par exemple des Ac anti-peptides cycliques citrullinés (Anti-CCP) dans la PR. C'est principalement la positivité conjointe de plusieurs auto-Ac qui a un réel intérêt clinique (tableau 03). À titre d'exemples, la présence conjointe d'anti-nucléosomes, d'anti-Ro et d'anti-RNP va orienter vers le diagnostic de lupus ; celle des anti-Ro et des anti-La vers le diagnostic de SGS; celle des facteurs rhumatoïdes et des anti-CCP rendra quasi-certain le diagnostic de PR. Enfin, tout résultat d'auto-Ac doit être confronté au tableau clinique (Saroux, 2013).

En fin, en cas de dépistage positif, des examens complémentaires seront réalisés pour identifier la cible. Un bilan auto-immun doit être interprété en tenant compte d'un certain nombre de paramètres dont les principaux sont : le type d'auto-anticorps recherché, la technique utilisée pour leur identification, le taux et la classe d'AAc recherché et surtout le contexte clinique. Pour

cela, il convient d'avoir une bonne maîtrise des techniques utilisées et d'intégrer les résultats des autres examens biologiques ainsi que des antécédents ; une collaboration étroite biologiste-clinicien est très nécessaire (Emile, 2017).

Tableau 3. Signification diagnostique et prévalence des principaux ANA au cours des affections auto-immunes (Humbel, 2000 ; Sibilia, 2002 ; Lassoued *et al.*, 2005 ; Goetz, 2012).

| MAI | ANA de haute spécificité | ANA fréquents mais non spécifiques |
|---|---|---|
| Lupus Erythémateux Désséminé | Anti-Nucléosomes (100%) Anti-ADN natif (95%) Anti-Sm (10%) Anti-PCNA (5%) Anti-Ribosomes P (5%) | Anti-RNP (20%) Anti-SSA (20%) Anti-SSB (5-15%) Anti-Ku (2%) Anti-histones (50%) |
| Lupus Erythémateux Systémique | Anti-Histones (80%) Anti-ADN natif (70-95%) Anti-Nucléosomes (30-50%) Anti-Sm (15-25%) Anti-PCNA (2-5%) | Anti-Ro/SSA (10-60%) Anti-La/SSB (50%) Anti-RNP (10-15%) Anti-U1RNP (25-30%) |
| Syndrome de Gouguéro Sjögren | Anti-Ro/SSA (60-80%) Anti-La/SSB (50-70%) | Anti-RNP (5-10%) Anti-Nucléoles (8%) |
| Sclérodémie Limitée (CREST) | Anti-Centromère (85%) Anti-U1RNP (3%) | Anti-Nucléoles (50%) |
| Diffuse | Anti-Scl 70 (50-70%) Anti-Nucléoles (15-40%) Anti-U1RNP (14%) | Anti-Centromère (8%) |
| Systémique | Anti-Nucléosomes (10-15%) Anti-Jo-1 I (5 à 20 %) | Anti-RNP |
| Connectivités mixte (syndrome de Sharp) | Anti-RNP (95-100%) | Anti-PM-Scl (3%) |
| Polymyosites | Anti-t-RNA synthétase (Anti-Jo-1) (30-35%) Anti-PM-Scl (5%) | Anti-Mi2 (< 5%) |
| Scléro-polymyosites | Anti-PM1 85% | |
| Dermatomyosites | Anti-PM1 (17%) Anti-Jo-1 (10-15%) Anti-Mi2 (5-10%) | Anti-Nucléoles (6%) |

III.4. Traitements des MAI

La prise en charge des maladies auto-immunes repose en partie sur une amélioration des symptômes spécifiques à chaque maladie. L'objectif du traitement est de contrôler tant que possible l'auto-immunité et l'évolution de la maladie en rééquilibrant le système immunitaire. Selon la maladie et le degré d'atteintes, différents traitements sont utilisés : Les anti-inflammatoires et les immuno-modulateurs qui contrôlent l'immunité ou les immunosuppresseurs qui diminuent globalement la réponse immunitaire.

Depuis une vingtaine d'années, des progrès importants ont été réalisés grâce à l'essor des biothérapies. En effet, elles ciblent spécifiquement le dérèglement immunitaire impliqué dans une pathologie donnée. Aujourd'hui, une dizaine de biothérapies différentes sont déposées. Il s'agit par exemple, de cibler spécifiquement les lymphocytes B qui produisent des auto-anticorps dans certaines formes de lupus ou de polyarthrite rhumatoïde ou de bloquer certaines molécules pro-inflammatoires comme le TNF-alpha dans la polyarthrite rhumatoïde ou l'interféron alpha dans le lupus (Blanco, 2019).

Partie 02.

Partie pratique

Chapitre I.
Matériels et méthodes

I.1. Description de la population

L'étude des ANA dans la région du Sahara Septentrional Est algérien est effectuée dans deux Laboratoires d'Analyses Médicales de référence ; EL AMEL dans la région d'Ouargla et IBN ROCHD dans la région de Ghardaïa, qui regroupent une population plus significatif de la zone d'étude.

Nous avons réalisé une étude rétrospective sur les dossiers de 273 patients établis pendant les trois dernières années 2017-2019 (entre 08 juin 2017 et 5 mai 2019) parmi lesquels 171 patients présentant des ANA négatifs et 102 patients ont des ANA positifs.

A l'aide d'une fiche d'exploration des patients (annexe 01) nous avons pu extraire les critères suivants :

- les données relatives au patient ;
- les signes cliniques ;
- les données biologique et radiologique.

I.2. Matériel biologique

Le prélèvement sanguin a été réalisé en suivant une méthodologie adoptée, consistant d'abord à l'enregistrement de la demande d'examen pour chaque malade. Les tubes de prélèvement sont étiquetés avec des codes-barres contenant les renseignements des patients. Ces données sont aussi inscrites sur des fiches avec la date et le lieu de prélèvement.

Le sang du patient est recueilli sur tube sec et centrifugé à 3000 rpm pendant 5 min. Le sérum est récupéré puis conservé à 4C°.

I.3. Démarche de la recherche des ANA/FAN totaux

Les ANA/FAN totaux sont recherchés soit par :

1. La technique de dépistage, l'Immunofluorescence Indirecte (IFI) aux Laboratoires d'Analyses Médicales TARZALI à Alger, BIOMNIS et CERBA en France ; si le dépistage est positif, il sera suivi d'une étape d'identification des anticorps anti-ENA par la technique d'ELISA ou de l'Immunodot.

2. Test sérologique ANAscreen-ELISA, puis si le résultat est positif, il sera suivi d'un test Immunodot pour l'identification des cibles antigéniques (figure 09).

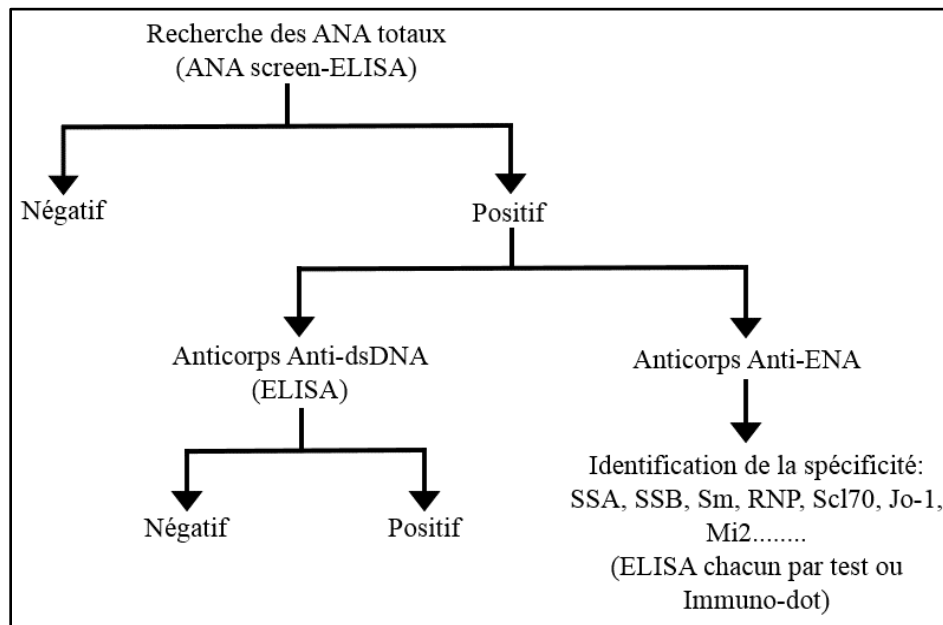


Figure 09. Démarche utilisée pour la recherche des ANA.

I.4. Dosage des ANA totaux par ELISA

➤ Automate, ALEGRIA®

L'automate Alegria® est un automate complet, innovant, performant, simple et sécurisé permettant la détection des auto-anticorps avec un degré de flexibilité sans étalonnage, et donc le diagnostic des maladies auto-immunes et infectieuses en utilisant la technique ELISA pour la détermination *in vitro* des complexes immuns présents dans le sérum ou le plasma humain.

Le test Alegria® est fourni avec des barrettes de microtitration portant un code à barres à 8 puits appelées barrettes test Alegria®. Chaque barrette est à usage unique sur un seul échantillon de patient. La barrette test Alegria® est fournie avec un ensemble complet de réactifs composés de conjugué enzymatique, de substrat de l'enzyme, de diluant de l'échantillon et d'un contrôle spécifique du test. De plus, chaque barrette test présente deux puits contenant des antigènes spécifiques au test qui font office de puits de réaction pour un contrôle et un échantillon. Le test Alegria® est un test qualitatif basé sur la technologie SMC (*Sensotronic Memorized Calibration*),

chaque barrette test Alegria® contient des informations sur le test, l'analyse et l'évaluation ainsi que la date d'expiration spécifique au lot qui sont imprimées sur le code à barres.

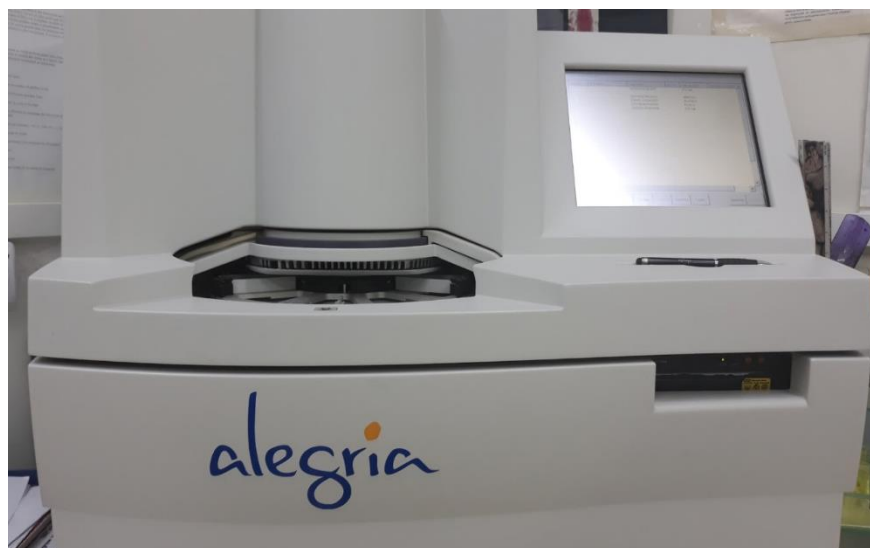


Photo 01. Automate Alegria®.

I.4.1. Principe de dosage des ANA totaux par Alegria®

Le kit Anti ANAscreen est un dosage immunométrique enzymatique en phase solide indirecte utilisé au laboratoire, et conçu pour la mesure semi-quantitative d'anticorps IgG dirigés contre les antigènes suivants: Sm, RNP/Sm, Scl-70, SS-A(Ro) 52 kDa et 60kDa, SS-B (La), Jo-1, U1-RNP, CENP-B, ADNdb et Histones présents dans le sérum ou le plasma humain.

La réaction est basée sur le principe de l'ELISA Indirect, avec les étapes suivantes : des anticorps spécifiques contenus dans l'échantillon à tester se lient aux surfaces recouvertes d'antigènes dans les deux puits de réaction formant un complexe Ag-Ac. Après l'incubation, une première étape de lavage élimine les molécules non liées et les molécules liées non spécifiées. Par la suite, Le conjugué enzymatique est ajouté et se lie aux complexes Ag-Ac qui se forment. Après l'incubation, une seconde étape de lavage élimine le conjugué enzymatique superflu. L'ajout de la solution du substrat d'enzyme entraîne l'hydrolyse et le développement d'une coloration pendant l'incubation. L'intensité de la coloration bleutée varie en fonction de la concentration des complexes Ag-Ac, et est mesurée à 650 nm par un module optique.

I.4.2. Réactifs prêts à l'emploi (Photo 2)

- Antigènes fixé sur phase solide (puits vides 3 et 4) ;
- Contrôle (jaune) : Il contient des anticorps spécifiques, du PBS, du BSA, un détergent et 0.09 % d'azide de sodium comme conservateur (Puit 5) ;
- Conjugué enzymatique (rouge clair) : Il contient des anticorps anti-humains IgG couplés à la peroxydase, du PBS, du BSA, un détergent et 0.05 % de ProClin comme conservateur (Puit 6) ;
- Diluant d'échantillon (jaune) : Il contient du PBS, du BSA, un détergent et 0.09 % d'azide de sodium comme conservateur (Puit 7) ;
- Solution de substrat TMB (incolore) : 3,3', 5,5'-tétraméthylbenzidine (Puit 8).

I.4.3. Mode opératoire du test ANAscreen

1. Tout d'abord, retirer uniquement le film protecteur des cavités vides de la barrette test ;



Photo 02. Barrette test Alegria®.

2. Pipeter 10 µl de prélèvement non dilué du patient sur le fond de la cavité 1 vide ;



Photo 03. Ajout du sérum du patient dans le puit 1 vide.

3. Placer des barrettes dans les « Sys Trays » ;



Photo 04. Emplacement des barrettes test dans les « Sys Trays ».

4. Positionner correctement les « Sys Trays » au niveau de l'automate Alegria® et lancer le run. Les autres étapes se font automatiquement. Un run est terminé lorsque l'imprimante de l'automate Alegria® commence à imprimer les résultats.

I.5. Identification des anticorps anti-ENA par la méthode Immunodot

I.5.1 Principe du test Immunodot

Il s'agit d'un test qualitatif *in vitro* utilisé pour la détection des auto-anticorps humains de classe IgG à l'aide d'un Kit Immunodot (EUROLINE® ANA Profil 3) qui permet de déterminer 15 auto-anticorps différents présents dans le sérum testé, ces AAc sont dirigés contre les antigènes suivants: nRNP/Sm, Sm, SS-A, Ro52, SS-B, Scl-70, PM-Scl, Jo-1, CENP B, PCNA, dsDNA, histones, nucléosomes, protéines P ribosomales et AMA-Mi2.

I.5.2. Réactifs

- Contrôle positif (IgG humain) : [100X], 1 × 0.02 ml ;
- Enzyme conjugué (anti-IgG humain couplé à la phosphatase alcaline) : [10 X], 1 × 3ml ;
- Diluant : 1 × 100 ml ;
- Solution de lavage : [10 X], 1 × 50 ml ;
- Substrat (NITROBLEU) : 1 × 30 ml.

I.5.3. Matériels

- Bandelettes sensibilisées contre les anti-ENA ;
- Plaque Immunodot (8 canaux) ;
- Pipettes de précision pouvant délivrer : 50 μ l, 500 μ l et 1000 μ l ;
- Un chronomètre pour déterminer des intervalles de temps ;
- Des serviettes en papier absorbant ;
- De l'eau distillée ;
- Un agitateur automatique.

I.5.4. Mode opératoire du test EUROLINE ANA Profile 3 (IgG)

1. Prétraitement : Mettre la bandelette test dans le canal de la plaque Immunodot et ajouter 1.5 ml de contrôle positif dilué (15 μ l de control positif + 1500 μ l de diluant) et incuber pendant 5 min, puis aspirer ;



Photo 05. Prétraitement de la bandelette avec le contrôle positif.

2. Ajouter 1.5 ml de sérum dilué 1/10 (1350 μ l de diluant + 150 μ l de sérum) dans le canal avec la bandelette, puis incuber pendant 30 min sous l'agitation à la température ambiante ;

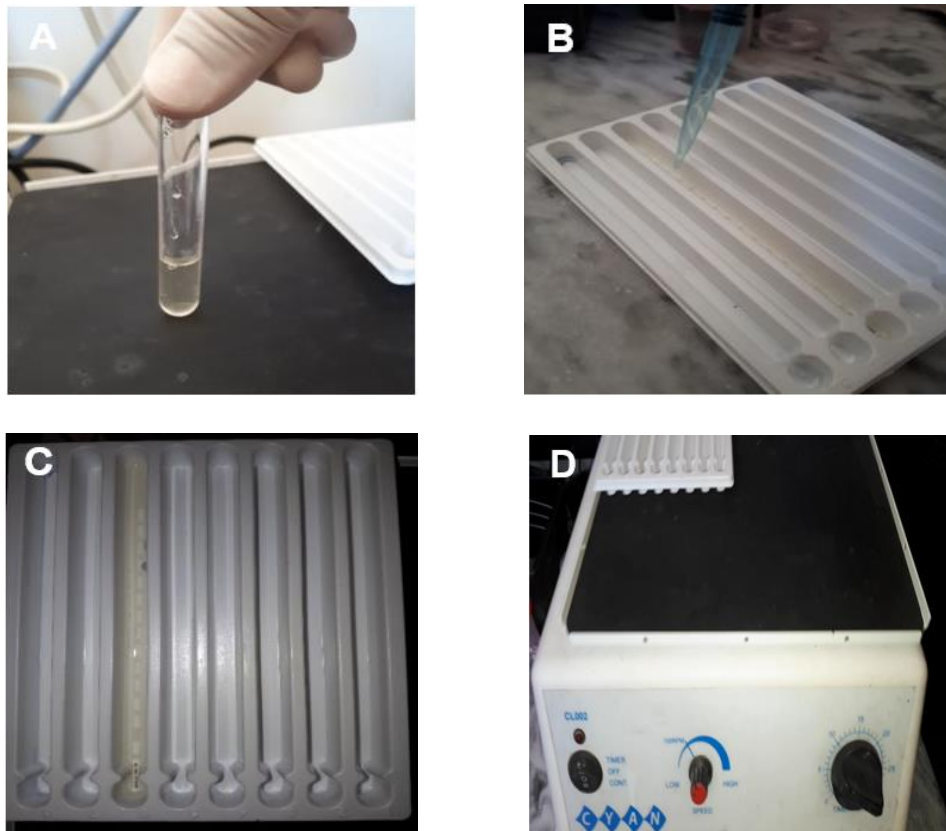


Photo 06. Dilution 1/10 du sérum (A), ajout du sérum avec la bandelette (B), incubation sous l'agitation à l'aide de l'agitateur automatique (C et D).

3. Aspirer le mélange, et rincer 3 fois la bandelette avec la solution de lavage diluée 1/10 (1 ml de solution de lavage + 9 ml de l'eau distillé) et incuber pendant 5 min à chaque fois ;

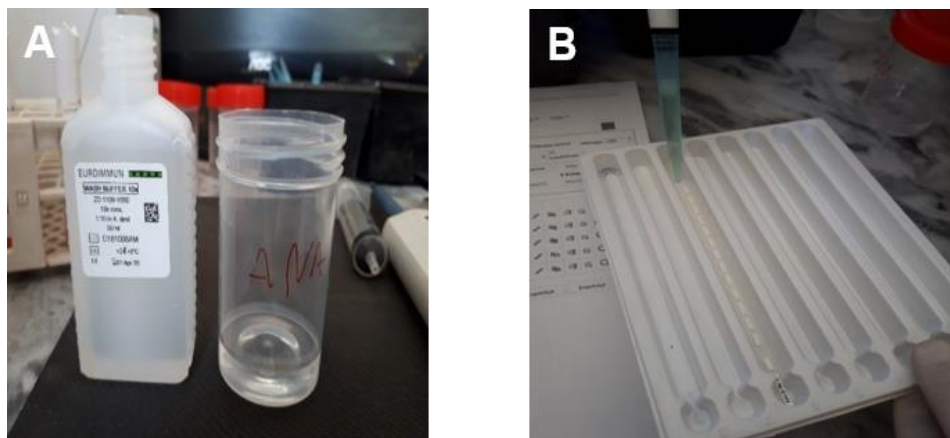


Photo 07. Dilution 1/10 de la solution de Lavage (A), lavage de la bandelette (B).

4. Ajouter 1.5 ml du conjugué enzymatique dilué 1/10 (1350 μ l du diluant + 150 μ l du conjugué) et incuber 30 min sous l'agitation à la température ambiante ;



Photo 08. Incubation de la bandelette avec le conjugué enzymatique dilué.

5. Rincer 3 fois la bandelette avec le tampon de lavage et incuber pendant 5 min à chaque fois ;

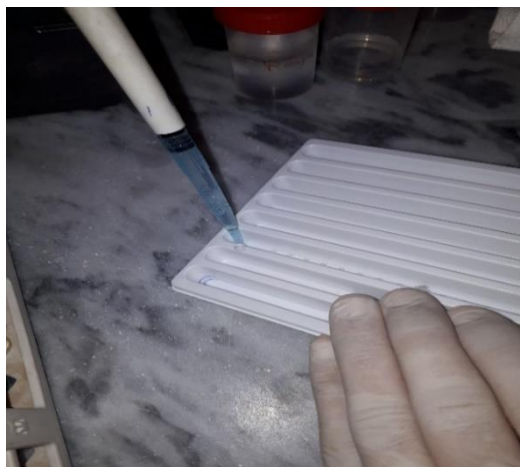


Photo 09. Lavage de la bandelette avec le tampon de lavage.

6. Mettre 1.5 ml de solution de substrat dans le canal avec la bandelette et incuber pendant 10 min à l'obscurité ;
7. Laver la bandelette 3 fois avec 1.5 ml de l'eau distillé ; puis sécher la bandelette à l'air libre.



Photo 10. Séchage de la bandelette à l'aire libre.

8. Evaluer la bandelette par EUROLinescan (digital).

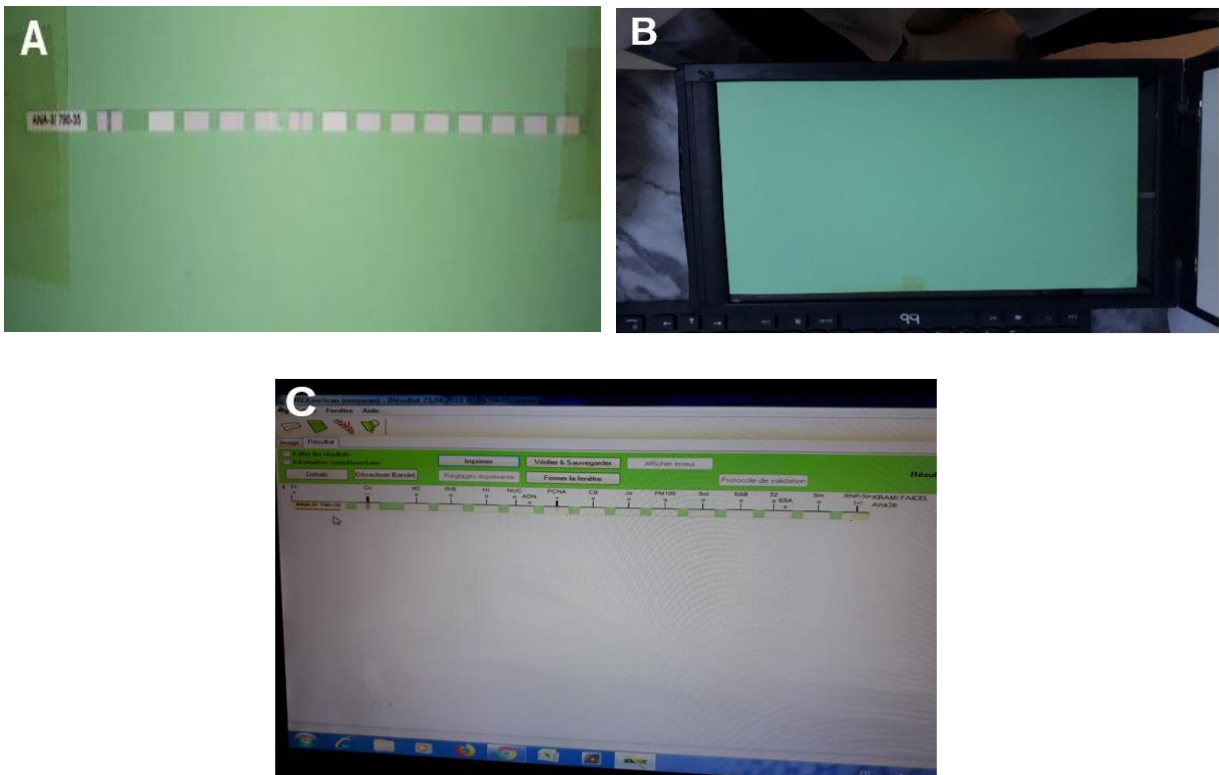


Photo 11. Evaluation de la bandelette.

Chapitre II.
Résultats et discussion

L'étude rétrospective s'est portée sur 273 bilans d'auto-immunité des patients admis aux Laboratoires d'Analyses Médicales: EL AMEL dans la région d'Ouargla et IBN ROCHD dans la région de Ghardaïa pendant les trois dernières années 2017-2019 (entre 08 juin 2017 et 05 mai 2019). Parmi ces bilans, 171 patients avec un pourcentage de 63% présentant des ANA négatifs et 102 patients avec 37% exprimant des ANA positifs. Parmi les 102 patients on a pu contacter 32 patients, mais seulement 9 patients ont répondu à la fiche d'exploration des patients.

II.1. Répartition des patients selon le sexe

Sur les 102 bilans étudiés, 83 patients sont des femmes et 19 patients sont des hommes. La répartition des patients selon le sexe est présentée dans la figure 10.

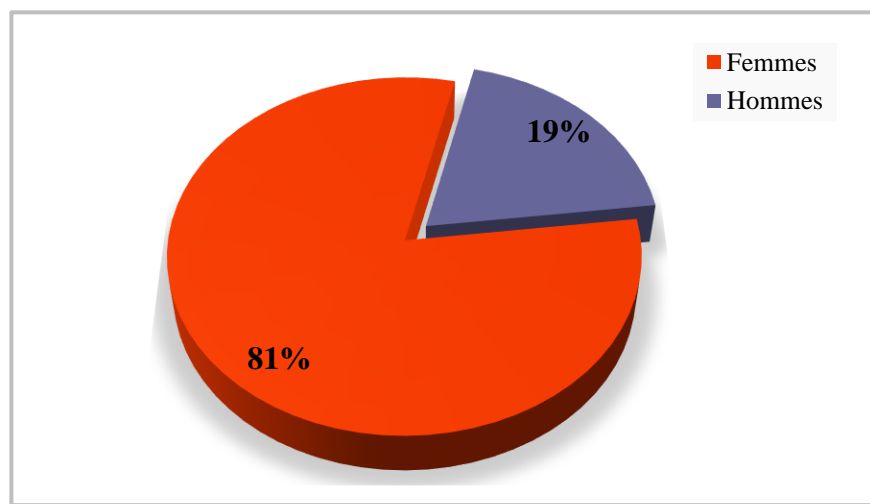


Figure 10. Répartition des patients selon le sexe.

Notre étude portant sur 102 patients a montré une prédominance féminine avec un pourcentage de 81% contre 19 % pour les hommes et avec un sexe-ratio (F/H) de 4.21. Ces résultats sont en accord avec ce qui est décrit dans la littérature. Hachulla et Launay (2007) ont retrouvé que les maladies auto-immunes systémiques touchent avec prédilection les femmes, souvent en âge de procréation. De même une étude rétrospective à propos d'une série de 40 patients réalisée au sein du laboratoire d'immunologie de l'Hôpital Militaire Régional Universitaire de Constantine (HMRUC) par Bougaada et Boussaid (2015) a montré que 85% des patients étaient de sexe féminin et 15% étaient de sexe masculin. Cela confirme que les femmes sont plus touchées par les

MAI. Selon Helen et Mansel (2006) ceci peut être expliqué par l'influence de certaines hormones sexuelles à savoir les œstrogènes car leur administration favorise l'apparition de certaines MAI comme le lupus érythémateux disséminé,

II.2. Répartition des patients selon la tranche d'âge

Dans notre série composée de 102 patients, l'âge varie de 6 à 73 ans. La répartition des patients selon l'âge est présentée dans la figure 11.

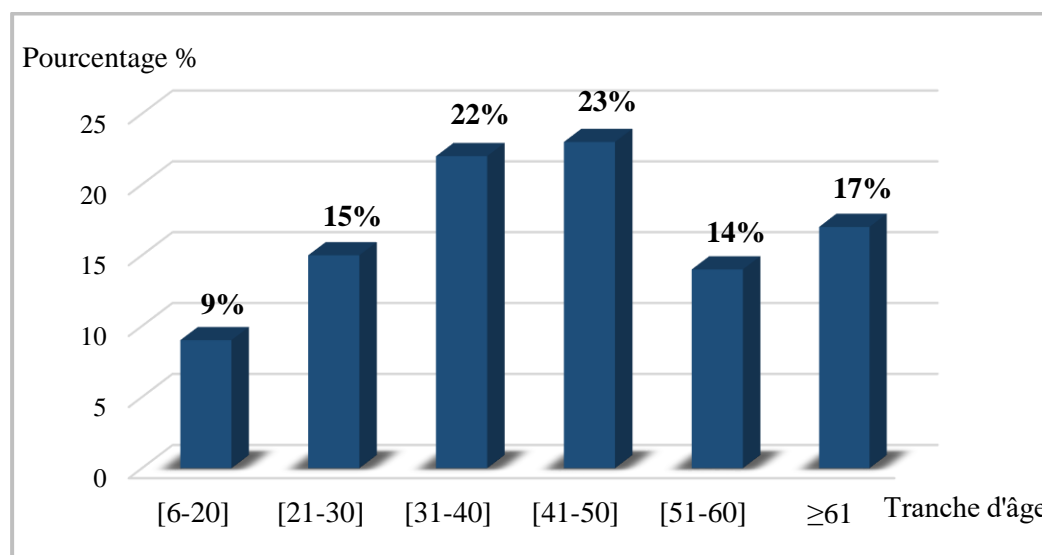


Figure 11. Répartition des patients selon la tranche d'âge.

L'analyse de la répartition selon l'âge montre que la tranche la plus touchée est celle de l'âge compris entre 41 et 50 ans avec un pourcentage de 23%, cette tranche est suivie par les tranches 31-40 ans soit 22%, puis la tranche des patients âgée de plus de 60 ans avec 17%, ensuite la tranche de 21-30 ans soit 15%, et de 51-60 ans soit 14% ; en fin la tranche des patients jeunes 6-20 ans avec 9%.

La moyenne d'âge de cette série est de 42 ans. Les tranches 41-50 ans et 31-40 ans avec les pourcentages de 23% et 22% respectivement sont les plus touchées. Nos résultats sont comparables à ceux de Abed *et al.* (2012) qui a trouvé d'après son étude épidémiologique que la moyenne d'âge est de 44.5 ans et même ceux obtenus par Feki *et al.* (2012) suivant d'une étude rétrospective à propos d'une série de 90 patients réalisée au sein de CHU Habib Bourguiba de Sfax à Tunis dans

laquelle l'âge moyen était 44 ans. Ces résultats sont aussi similaires à ceux obtenus par Bougaada et Boussaid (2015) avec une moyenne d'âge de 43.65 ans.

II.3. Analyse par Immunofluorescence Indirect et ELISA

En matière de recherche des ANA, la population composée de 102 patients ayant des ANA positifs se subdivise en deux groupes :

- Groupe de patients avec des ANA positifs dépisté par l'IFI sur les cellules Hep2 soit 58% : Selon le demande du médecin dans le bilan immunologique ; le dépistage est effectué au sein des laboratoires d'analyses médicales TARZALI à Alger, BIOMNIS et CERBA en France, à cause du manque de la technique dans les laboratoires concernés par l'étude. Pour ces laboratoires le seuil de positivité est la dilution 1/80e.
- Groupe de patients ayant des ANA positifs révélés par ELISA au sein des laboratoires concernés par l'étude soit 42 %.

II.3.1. Analyse par Immunofluorescence Indirect

II.3.1.1. Répartition des patients selon le titre de l'ANA

Les ANA sont révélés positifs par l'IFI à des titres différents. Ces derniers varient de 1/80e à 1/1280e, dont les pourcentages sont reportés dans la figure 12.

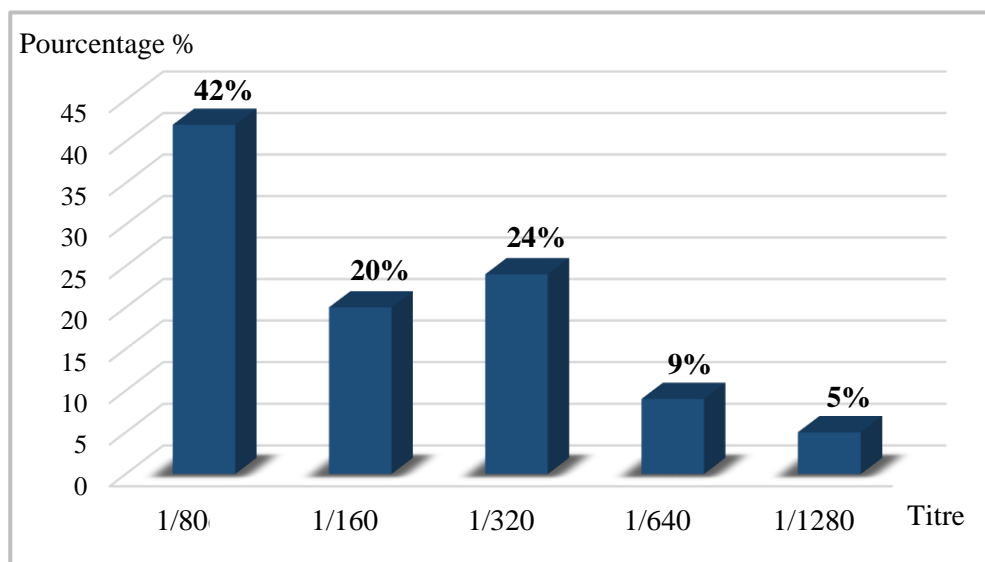


Figure 12. Répartition des patients selon le titre de l'ANA.

Au vue de la figure 12, le titre 1/80 à le pourcentage le plus élevé soit 42%, suivi par le titre 1/320 avec un pourcentage de 24% et le titre 1/160 avec 20%, puis le titre 1/640 soit 9%, enfin le titre 1/1280 avec le pourcentage le plus faible soit 5%.

Selon Buchanan et Riglar (1989) il est vrai de dire que les titres plus élevés d'ANA sont plus significatifs sur le plan clinique. Cependant, il convient de noter que des titres plus élevés d'ANA ne signifient pas toujours que la maladie du patient est plus grave ou plus active. La spécificité des auto-Ac est l'un des facteurs fortement corrélés aux titres d'ANA. Certains auto-anticorps tels que les anti-ADNdb présentent généralement des titres relativement faibles en ANA, tandis que d'autres, tels que les anticorps anti-U1RNP et le centromère peuvent présenter des titres égaux ou supérieurs à 1/320.

Bodolay et Szegedi (2003) ; Mosca *et al.* (2007) signalent que les personnes présentant des titres élevés en ANA peuvent ne pas être atteintes d'une atteinte grave des organes, et peuvent ne nécessiter aucun traitement médical. Par ailleurs, les patients présentant de faibles titres en anticorps marqueurs de la maladie pourraient présenter une maladie typique nécessitant une attention et un suivi.

II.3.1.2. Répartition des patients selon l'aspect de fluorescence

La recherche des ANA est réalisée par la méthode d'Immunofluorescence Indirect (IFI) qui permet le dépistage des ANA. Il est remarqué différents aspects de la fluorescence : moucheté, homogène ; centromère ; nucléolaire ; homogène et moucheté ; moucheté et nucléolaire et homogène et nucléolaire, ces aspects ont été observé par le microscope à fluorescence. Les résultats de ces observations de fluorescence sont reportés dans la figure 13.

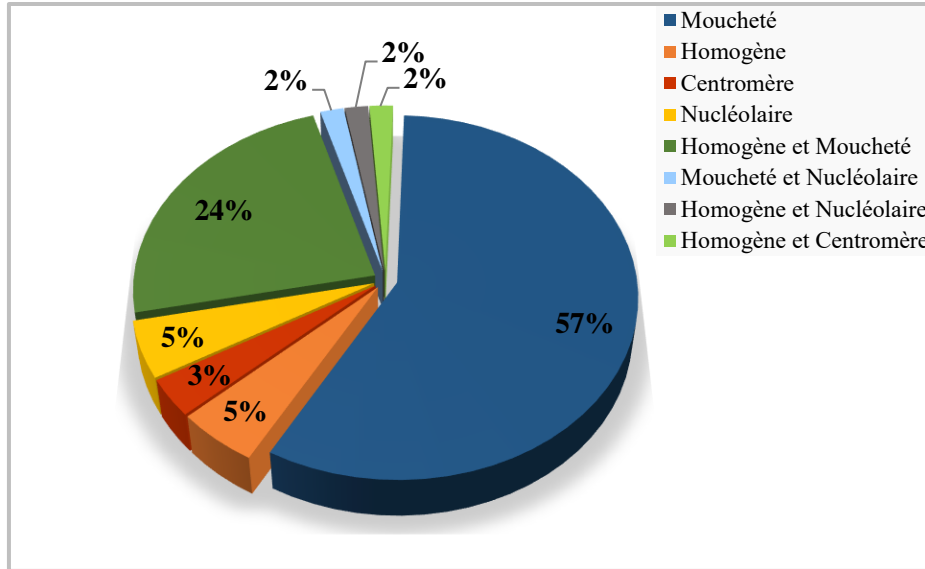


Figure 13. Répartition des patients selon l'aspect de la fluorescence.

Le dépistage des ANA par l'IFI a révélé 47 cas soit 80 % des sérums positifs. Parmi ces sérums, nous avons retrouvé que l'aspect moucheté est présenté par le pourcentage le plus élevé soit 57%, suivi par celui de l'aspect mixte homogène et moucheté soit 24%, en suite les 2 pourcentage des aspects homogène avec 7% et nucléolaire avec 5% puis le pourcentage de l'aspect centromère avec 3% et dans la dernière position vient les 3 pourcentage des aspects mixtes moucheté et nucléolaire ; homogène et nucléolaire et homogène et centromère qui représentent 2% dans chaque aspect.

Pour le laboratoire de BIOMNIS, les principaux aspects de fluorescence sur HEp-2 sont : homogène, moucheté, membranaire, centromère et nucléolaire. Ces différents aspects orientent vers la nature de l'auto-antigène cible, mais ils ne suffisent pas à poser le diagnostic. De plus plusieurs anticorps anti-nucléaires de spécificités différentes pouvant co-exister dans le même sérum, ce qui explique l'apparition de différents aspects de fluorescence dans nos résultats d'IFI.

II.3.1.3. Répartition des patients selon la positivité de l'IFI et l'identification des anticorps anti-ENA

La répartition des patients selon la positivité du dépistage des ANA par l'IFI et l'identification des Anti-ENA par ELISA et Immunodot est montrée dans figure 14.

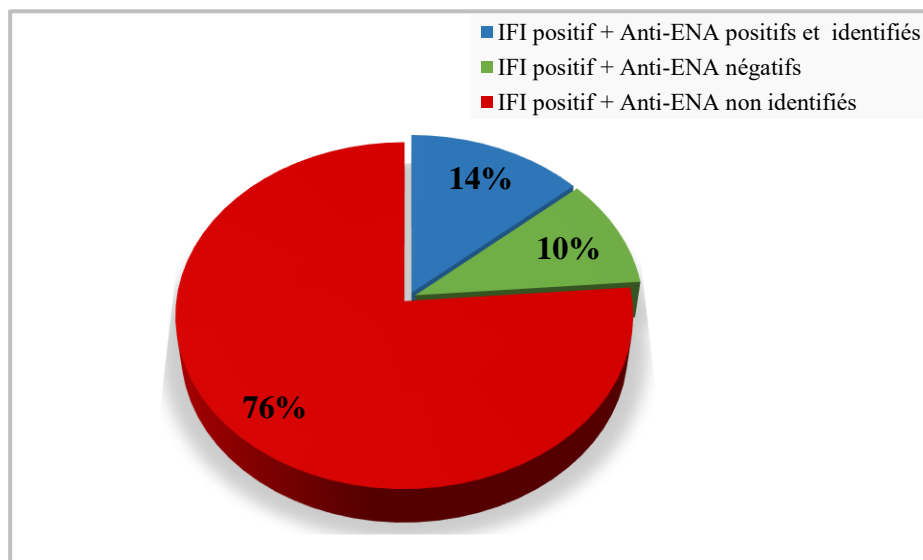


Figure 14. Répartition des patients selon la positivité de l'IFI et l'identification des Anti-ENA.

La figure 14 montre la répartition des patients selon la positivité de l'IFI et l'identification des Anti-ENA. Huit patients soit leur pourcentage 14% ont des ANAtotaux positifs dépistés par l'IFI avec des Anti-ENA identifiés par l'Immunodot ; 6 patients soit 10% ont des ANAtotaux positifs dépistés par l'IFI positif avec des Anti-ENA négatifs ; alors que 45 patients avec le pourcentage le plus élevé soit 76% ont des ANAtotaux positifs dépistés l'IFI positif mais leurs Anti-ENA sont non identifiés.

Selon André et Bossuyt (2012) une bonne analyse de l'aspect de fluorescence oriente souvent vers la spécificité de l'anticorps et vers les tests d'identification. C'est pourquoi les techniques ELISA et Immunodot sont utilisées pour la recherche d'Anti-DNA et des Anti-ENA. Ces techniques ont été effectués chez 8 patients. Les résultats sont mentionnés dans le tableau 04.

Tableau 04. Résultats des patients ayant IFI positif avec Ac Anti-ENA identifiés.

| Patient | Titre | Aspect de fluorescence | Anti-DNA | Types d'anti-ENA |
|---------|-------|------------------------|----------|--|
| 1 | 1/80 | Moucheté + Homogène | Positif | Anti-Histones Anti-RNP/Sm Anti-Scl70 Anti-Mi2 |
| 2 | 1/80 | Moucheté + Homogène | Positif | Anti-Ro52 |
| 3 | 1/80 | Moucheté + Homogène | Positif | Anti-PCNA |
| 4 | 1/160 | Homogène | Positif | Anti-SSA(Ro-60) |
| 5 | 1/160 | Homogène + Centromère | Négatif | Anti-CENP B Anti-Mi2 |
| 6 | 1/160 | Homogène | Négatif | Anti-Mi2 |
| 7 | 1/640 | Moucheté | Négatif | Anti-SSA/Ro60 Anti-Ro52 Anti-SSB |
| 8 | 1/320 | Moucheté | Négatif | Anti-SSA/Ro60 Anti-SSA/Ro52 |

Au vue de la figure 14 et le tableau 04, nos résultats montrent la positivité des ANA à des titres faibles avec la présence des anti-ADN associés aux anticorps antigènes solubles (Anti-ENA) dans 4 cas ce qui confirme l'apparition des aspects mixtes de types moucheté et homogène par L'IFI réalisée pour les sérums des 4 patients.

L'apparition d'un aspect homogène à un titre de 1/160 associé à la positivité des Anti-DNA et Anti-SSA/Ro60 est expliqué selon Saraux (2013) par le fait qu'une fluorescence homogène peut masquer des images de fluorescence mouchetée ou nucléolaire, si bien qu'en pratique courante, face à une fluorescence homogène, le biologiste va réaliser d'emblée la recherche de toutes les spécificités (anti-ADNn et Anti-ENA) réalisées en routine.

En revanche, il est remarqué aussi l'apparition d'un aspect homogène et centromère à un titre de 1/160 avec la positivité des Anti-CENP B et Anti-Mi2 alors que les Anti-DNA sont négatifs, ce résultat est expliqué selon Saraux (2013) par le fait que l'image de la fluorescence est fortement évocatrice et oriente d'emblée vers une population d'AAc bien définie, sans recourir à d'autres analyses ; c'est notamment le cas des anti-centromères.

Pour un cas de ces résultats il y'a l'apparition d'un aspect homogène à un titre de 1/160 avec la positivité des Anti-Mi2, alors que les Anti-DNA sont négatifs, selon le laboratoire de BIOMNIS tout dépistage positif d'AAN à un titre supérieur à 1/100 est suivi d'une recherche quantitative d'Ac anti-DNA natif ainsi que d'un dépistage d'Ac anti-antigènes nucléaires solubles. Si cette seconde recherche est négative, un titrage des Ac anti-Histones peut être effectuée. Dans deux cas l'apparition de l'aspect moucheté à des titres élevés 1/320 et 1/640 est associée avec la positivité des anti-SSA et anti-SSB, ce résultat est accord avec ce qui décrit dans la littérature.

Nos résultats montrent 10% de patients ont un dépistage par l'IFI positif mais l'identification des anti-ENA est négative, selon Emile (2017) cela peut être dû à des titres faibles d'anticorps, des cibles antigéniques différents, ou une cible non encore identifiée. Ainsi, Hachulla et Dubucquoi (2004) signalent que la présence d'ANA sans spécificité déterminée pourrait alors être expliquée par la présence d'autres cibles antigéniques possibles dont la recherche peut être l'affaire de laboratoires spécialisés.

La proportion majoritaire soit 76% de cas regroupe les patients qu'ont IFI positif mais leurs Ac Anti-ENA sont non identifiés, ceci laisse suggérer deux possibilités :

- Soit, le médecin observe les signes cliniques sur le patient et suspecte une MAI. Pour confirmer son observation, il demande dans le bilan immunologique le dépistage des ANA par l'Immunofluorescence Indirecte sur Hep2, en tenant compte que l'IFI est plus sensible que les autres techniques. Ensuite, Saraux (2013) signale que la présence de l'image de la fluorescence à des titres plus élevés tel que le titre 1/320, 1/640 et le titre 1/1280 peut être fortement évocatrice et oriente vers une population d'auto-Ac bien définie sans recourir à d'autres analyses, et sachant que certaines MAI se traitent de la même manière, le médecin n'a pas besoin de savoir quel type de

MAI a le patient. De plus, selon Emile (2017) certains auto-Ac sont détectés uniquement par l'IFI et n'existe pas de techniques pour leur identification.

- Soit, quand le dépistage par l'IFI présente des ANA positifs, le médecin demande aux patients de faire d'autres analyses pour l'identification des anti-ENA et la caractérisation de la maladie, mais à cause du coût élevé des analyses de l'auto-immunité, les patients ne continuent pas leurs profils.

II.4. Analyse des ANA par ELISA

Parmi les 102 cas étudiés, 43 patients soit 42% se sont révélés ANA positifs par ELISA au Laboratoire d'Analyses Médicales EL AMEL. Les résultats sont montrés dans la figure 15.

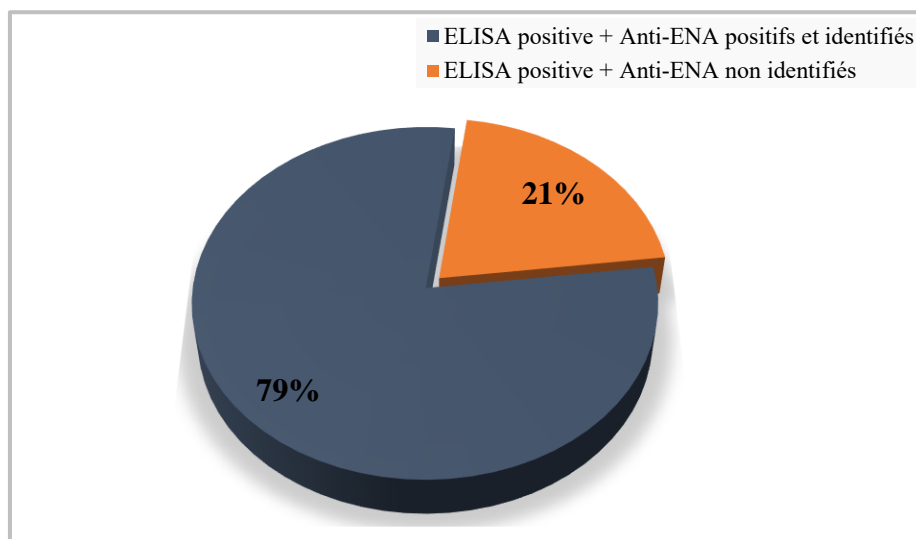


Figure 15. Répartition des patients selon la positivité d'ELISA et l'identification des Anti-ENA.

Selon Ząbek (2013) ; Agmon-Levin *et al.* (2014) les méthodes immuno-enzymatiques à savoir les tests ELISA permettent la détermination qualitative et quantitative des anticorps dans toutes les classes d'immunoglobulines. Ils peuvent être utilisés pour évaluer la dynamique des anticorps anti-ADN au cours du traitement du LES.

Au vue de la figure 16, 34 patients soit 79% ont des ANA totaux positifs révélés par ELISA et leurs anti-ENA sont identifiés par l'Immunodot. On a pu extraire les caractéristiques cliniques

de 9 patients ayant répondu à la fiche d'exploitation des patients. Les résultats du contact sont résumés dans le tableau 05.

Tableau 05. Caractéristiques des 09 patients ayant répondu à la fiche questionnaire.

| Caractéristiques | Nombre de cas | Pourcentage (%) |
|-----------------------------------|----------------------|------------------------|
| Sexe | | |
| Femme | 7 | 16% |
| Homme | 2 | 5% |
| Signes articulaires | | 24% |
| Arthralgies | 3 | |
| Arthrites | 2 | |
| Synovites | 3 | |
| Déformations | 2 | |
| Signes cutanéomuqueux | | 22% |
| Xérostomie | 1 | |
| Ulcérations buccales | 1 | |
| Xérophtalmie | 1 | |
| Photosensibilité | 2 | |
| Chute des cheveux | 3 | |
| Hyperpigmentation cutanée | 1 | |
| Sclérose cutanée | 1 | |
| Signes généraux | | 31% |
| Asthénie | 4 | |
| Fièvre | 4 | |
| Anorexie | 1 | |
| Douleurs chroniques | 4 | |
| Coma | 1 | |
| Signes cardiorespiratoires | | 2% |
| Douleur thoracique | 1 | |
| Déficit musculaire | 1 | 2% |
| Troubles digestives | 1 | 2% |
| Convulsions ou psychose | 2 | 5% |
| Dysthyroïdie | 1 | 2% |
| Signes obstétricaux | 2 | 5% |
| Anémie | 3 | 7% |
| Atteintes rénales | 2 | 5% |

Suite du tableau 05. Caractéristiques des 09 patients ayant répondu à la fiche questionnaire.

| Caractéristiques | Nombre | Pourcentage (%) |
|------------------|--------------|-----------------|
| Infection | | 9% |
| Virus | 1 (Rougeole) | |
| Bactérie | 1 (BK) | |
| Champignons | 1 cas | |
| Décès | 1 | 3% |

Les principales manifestations cliniques de cette population de 9 patients étaient les signes généraux avec un pourcentage de 31%, suivis des signes articulaires (arthralgies et arthrites) avec 24% et les signes cutanéomuqueux (xérophtalmie, photosensibilité et perte de cheveux) avec 22%. Trois pourcent des cas étaient infecté : un cas par la tuberculose pulmonaire pendant trois ans, un cas par la rougeole, et l'autre par des champignons depuis deux années. Pisetsky *et al.* (2009) ont suggéré que les ANA peuvent être induits par plusieurs infections, le plus souvent par mimétisme moléculaire entre l'Ag infectieux et cellulaire.

Des ANA positifs induits par les médicaments de contraception était évoqués chez deux patientes soit 5%, pour ces patientes des avortements répétés plus de 3 fois et des atteintes hépatiques sont observés. Leur profil d'ANA était positif pour les Ac de type anti-AMA-Mi2.

La vitesse de sédimentation était élevée chez 4 patients soit 9%. La formule de numération sanguine (FNS) montrait une hypoglycémie et une anémie chez 2 cas soit 5%. Une hyperlymphocytose était observée chez 3 cas soit 7%. La CRP était élevée chez 2 cas. Pour les explorations immunologiques, un deuxième auto-anticorps autre que les ANA était détecté chez 9% des patients. Trois patients soit 7% avaient le facteur rhumatoïde (FR) positif associé aux anti-ENA positifs et 2% des patients avaient des Ac anti-phospholipides positifs associés aux anti-DNAn et anti-ENA positifs. Les anticorps anti-TSH étaient positifs chez un cas. L'imagerie médicale par l'IRM de deux patients a montré des synovites au niveau des doigts chez un cas ; des érosions au niveau des articulations et des déformations d'os au niveau des bras et jambes chez l'autre cas.

Le diagnostic de maladies auto-immunes était évoqué chez 6 patients ont ANA positifs soit 14%. Trois cas correspondent à deux femmes et un homme ont la polyarthrite rhumatoïde ; un homme a le SGS, une fille a l'anémie hémolytique et une femme a la cirrhose biliaire primitive. Combe, 2007 ; Souabni *et al.* (2007) signalent que la fréquence des ANA dans la PR varie de 15 à 50 %. Ainsi, Combe (2007) signale que la présentation clinique et paraclinique des PR à ANA positifs rejoint celle des PR séropositives (FR positif). Il existe fréquemment des manifestations extra-articulaires, en particulier d'un SGS. Il est nécessaire aussi d'effectuer la recherche d'ANA dans le bilan d'une polyarthrite débutante pour éliminer différents diagnostics différentiels, en particulier une polyarthrite lupique, un SGS, ou une sclérodermie.

Le diagnostic des maladies non auto-immunes était évoqué chez trois cas soit 7% ; un cas souffre de l'Asthme, un cas a le goitre thyroïdien et l'autre cas est atteint par l'ostéoporose. Agache *et al.* (2009) ont constaté que la présence d'ANA chez l'asthmatique est un facteur de risque de complications, voire le décès.

Deux cas n'avaient pas d'orientation diagnostique par le médecin : une femme (35 ans) est décédée à cause d'une inflammation systémique aiguë avec des atteintes cutanéomuqueuses graves, des atteintes neurologiques, des atteintes hépatiques et des atteintes rénales irréversibles dans une période de 6 mois ; son profil d'ANA comporte des Anti-DNAn, des Anti-RNP/Sm, des Anti-Sm, des Anti-SSA (60 KD), des Anti-SSB, des Anti-Centromères B, des Anti-Nucléosomes et des Anti-AMA-Mi2 positifs. Alors que l'autre cas a refait un deuxième profil d'ANA suite à la demande du médecin et le résultat s'était ANAscreen négatif. Pour expliquer ce résultat Wijeyesinghe (2008) a proposé l'hypothèse que certains patients passent par une phase préclinique d'une éventuelle pathologie non encore déclarée ou leur tableau clinique ne s'est pas encore complété.

Les traitements suivis par 19% des patients malades sont les corticoïdes et les anti-inflammatoires non stéroïdiens

Cependant 9 patients soit 21% ont des ANA positifs révélés par ELISA mais leurs Anti-ENA sont non identifiés. Ceci peut être dépend soit de la demande du médecin dans le bilan d'auto-immunité ou les patients ne continuent pas leurs profils. En faveur de l'intérêt clinique de ces ANA même en l'absence de caractérisation de leurs cibles, cette population des patients présente des ANA totaux positifs avec des Anti-DNAn positifs révélés par ELISA.

II.4.1. Répartition des patients selon le type de l'ANA

L'analyse sérologique a permis de d'identifier les ANA (anti-DNA, anti-SSA, anti-SSB, anti-Sm /RNP ...) chez 34 patients soit 79%. La figure 16 représente la répartition des patients ayant FAN positifs selon le type des anticorps anti-nucléaires identifiés par les deux techniques ELISA et l'Immunodot.

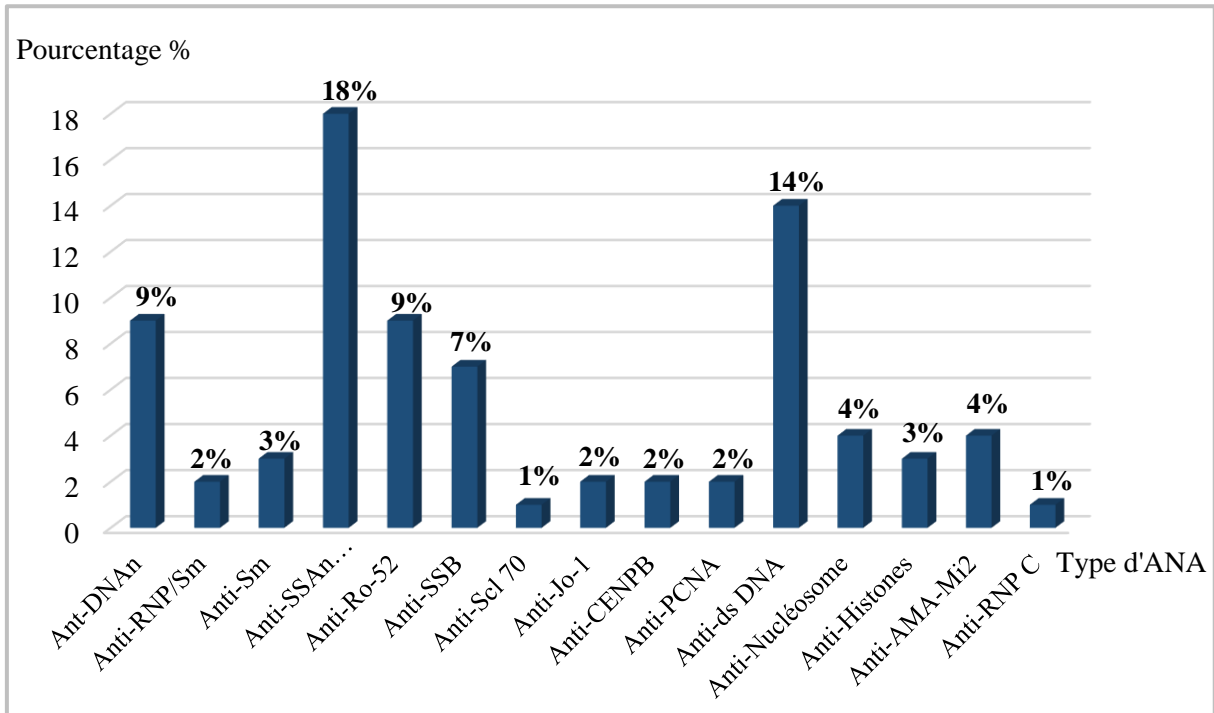


Figure 16. Répartition des patients selon le type de l'ANA.

Au vue de la figure 16, les anticorps Anti-SSA (60 kDa) constituent le type d'anticorps le plus abondant avec un pourcentage de 18%, suivie des anticorps Anti-ADNs avec 14%. Ensuite, 9% des patients sont positifs pour les Anti-Ro52. Neufs patients soit 9% sont positifs pour les anticorps les Ac Anti-DNAn, ainsi que 7% sont positifs pour les anticorps Anti-SSB, puis 4% des patients sont positifs pour les Anti-Nucléosome et les Anti-AMA-Mi2. 3% ont les Ac Anti-SM et les Anti-histones. Des patients ont les Anti-RNP/Sm, les anticorps Anti-Jo-1, les anticorps Anti-Centromère B et Anti-PCNA positifs avec 2% pour chacun. Pour la dernière position vient les Anti-Scl70 et Anti-RNP C avec un pourcentage de 1% pour chacun. Nos résultats montrent que l'Anti-SSA constitue le type d'Ac le plus abondant suivi de l'anti-ADN et l'Anti-SM/ RNP cette prédominance a été rapporté par Schulte-Pelkum *et al.* (2009).

II.4.2. Expression des auto-anticorps antinucléaires selon le sexe

Il est remarqué que l'expression des auto-Ac antinucléaires est différente chez les deux sexes et pour chaque type d'ANA. Les résultats sont mentionnés dans la figure 17.

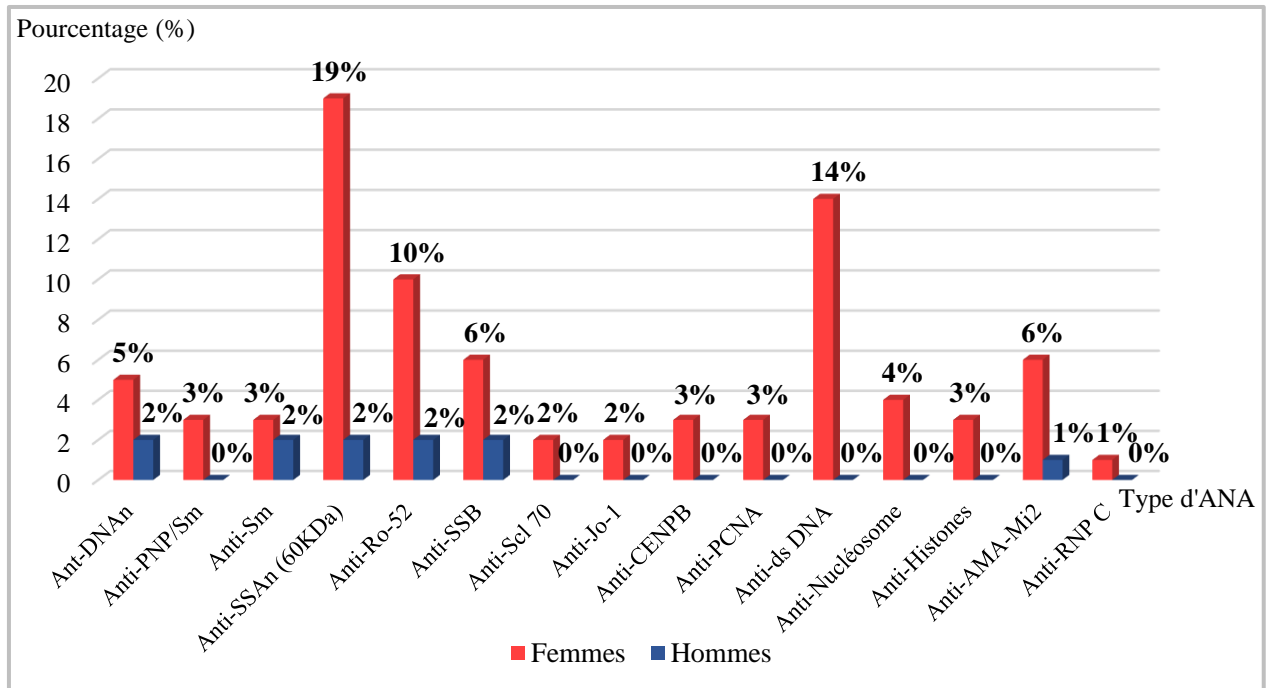


Figure 17. Expression des auto-anticorps antinucléaires selon le sexe.

Cette population de patients est constituée de 5 hommes soit 15% et 29 femmes soit 85%. Au vue de la figure 17, les Ac Anti-SSA et Anti-SSB sont retrouvés chez les deux sexes, mais ils sont prédominant chez les femmes, alors que les Anti-DNA, Anti-Histones, Anti-Nucléosomes, Anti-CENPB, Anti-PCNA et Anti-Sc170 sont retrouvés uniquement chez les femmes.

La mise en évidence d'Ac Anti-ADNn est le signe biologique le plus spécifique du lupus. Ces Ac sont positifs que dans le LES et constituent donc un test très spécifique et assez sensible. Dans le LES, la prédominance féminine est très nette avec un sex ratio de 9 femmes pour 1 homme. Au cours du SGS, les Anti-SSA et Anti-SSB s'observent dans 40 à 60 % des cas ; mais dans le LES les Anti-SSA sont présents dans 25 à 35 % des cas et les Anti-SSB dans 10 % des cas ; ces derniers sont donc un peu plus spécifiques du SGS, mais très peu sensibles. Le SGS touche les femmes dans 90 % des cas (Armengol *et al.*, 2014).

Conclusion et perspectives

Le travail présenté dans ce mémoire s'est porté sur une étude rétrospective de 102 profils des anticorps anti-nucléaires dans la région du Sahara Septentrional Est algérien.

Les résultats globaux ont montré une nette prédominance féminine avec un pourcentage de 81% et un sexe-ratio de 4,21. Les tranches d'âge qui prédominent dans cette population de patients sont 41-50 ans et 31-40 ans avec des pourcentages de 23% et 22% respectivement. Les images de fluorescence observées par l'IFI donnent une première information sur l'identité de la cible, mais elles ne suffisent pas à poser le diagnostic. Le titre d'ANA peut donner une suggestion potentielle sur l'évolution de la maladie, mais il reste interprétable selon l'âge et l'état clinique du patient. L'aspect de la fluorescence le plus dominant chez le premier groupe de patients est l'aspect moucheté, alors que les types d'ANA les plus abondants dans le deuxième groupe de patients, notamment chez les femmes est celui de l'Anti-SSA soit 19% suivi de l'Anti-DNA soit 14%, et avec moindre pourcentage les Anti-SSB avec 7%, les Anti-nucléosome et anti-AMA-Mi2 avec 4% pour chacun, les Anti-Histone et Anti-Sm avec 3% pour chacun et l'Anti-CENP B et Anti-RNP/SM avec 2% pour chacun. On a remarqué des différents signes cliniques chez certains patients dont les signes généraux et articulaires sont les plus dominants. La PR, le SGS, l'anémie hémolytique et La cirrhose biliaire primitive sont les MAI diagnostiquées chez uniquement 6 patients.

L'interprétation de la positivité de ces ANA requiert cependant beaucoup de délicatesse avec un bon dialogue clinico-biologique entre le biologiste et le médecin d'autant plus qu'un bon nombre de pathologies non auto-immunes peuvent s'associer à des marqueurs d'auto-immunité.

L'Immunofluorescence Indirecte reste à l'heure actuelle la technique de référence pour le dépistage des auto-anticorps antinucléaires. La détection des ANA a un grand intérêt pour le diagnostic et pour une immuno-surveillance des patients afin de freiner l'évolution des maladies auto-immunes.

Néanmoins les résultats de ce modeste travail constituent les bases d'un travail à poursuivre et à améliorer pour une étude beaucoup plus approfondie. Ainsi, les perspectives futures sont tout d'abord, d'explorer d'autres patients exprimant des ANA positifs et de faire un contact direct avec les patients afin de rassembler tous les données cliniques, biologiques et radiologiques. Ceci permet d'étudier les corrélations entre la présentation clinique de la maladie et la positivité des ANA.

Ensuite l'établissement d'un profil biologique individuel comportant les taux du CRP, la VS et FNS associés à un bilan viscéral peut aider les médecins à une meilleure prise en charge de la maladie et peut permettre aussi un meilleur accès aux protocoles thérapeutiques.

Finalement, il serait intéressant de suivre l'évolution des patients sans diagnostic déterminé et de réaliser des études prospectives sur chaque pathologie à part afin de combler les aléas classiques de l'étude rétrospective et d'estimer objectivement la prévalence des ANA au cours des différentes maladies auto-immunes.

Références bibliographiques

1. Abed S., Ben Ayed M., Ben Hadj Hmida Y., Feki S., Frikha F., Turki H. *et al.*, 2012. Prévalence et valeur diagnostique des anticorps antinucléaires de spécificité antigénique indéterminée: étude rétrospective à propos d'une série de 90 patients. *Médecine Interne*, vol. 33: 475- 481.
2. Abid M., Ayadi H., Chabchoub G., Maalej A., Mnif M., Charfi N., 2006. Étude épidémiologique des maladies autoimmunes thyroïdiennes dans le sud tunisien. *Annales d'Endocrinologie*, vol. 67: 591-595.
3. Abul K., Abbas, Andrew H., Lichtman, 2009. *Les bases de l'immunologie fondamentale et clinique*. Ed. Elsevier Masson. 3ème édition, chapitre 9. P: 158-166.
4. Achour A., Jamin C., Olivier J., Youinou P., 2014. Les lymphocytes régulateurs. Une nouvelle coopération entre cellules T et B pour un contrôle plus efficace de la réponse immunitaire. *Médicale*, vol. 43:18-26.
5. Agache I., Duca L., Anghel M., Pamfil G., 2009. Antinuclear antibodies in asthma patients, a special asthma phenotype? *Iran J Allergy Asthma Immunol*, vol. 8: 49–52.
6. Agmon-Levin N., Damoiseaux J., Kallenberg C., *et al.*, 2014. International recommendations for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies. *Ann Rheum Dis*, vol. 73: 17-23.
7. Allanore Y., 2016. Physiopathologie de la sclérodermie systémique. *Médecine / sciences*. Feb 2, vol. 32 (2). 183-191.
8. Amoura Z. *et al.*, 2005. *Médecine interne*. Collège national des enseignants de médecine interne. Chapitre 2. P: 24-34.
9. Amoura Z., Arnaud L., Mathian A., 2014. Physiopathologie du lupus systémique : le point en 2014. *Médecine Interne*, vol. 35: 503-511.
10. Armengol G., Bellien J., Benhamou Y., Gomez E., Joannidès R., Lévesque H., Richard V., 2014. Évaluation de la fonction endothéliale au cours des maladies auto-immunes. *Médecine Interne*, vol. 35: 512-523.
11. André. C., Bossuyt. X., 2012. Systèmes automatisés de lecture des images de fluorescence. *Francophone des Laboratoires*. P:13-15.
12. Arsène M., Olivier F., 2012. Auto-anticorps : quand les demander ?. *La revue du praticien médecine générale*, vol. 26: 382-384.
13. ASSIM : Collège des Enseignants d'Immunologie., 2018. *Immunologie fondamentale et immunopathologie*, 2e édition, Ed. Elsevier Masson. Chapitre 21. P: 160.

14. Atouf O., Benseffaj N., Brick C., Essakalli M., Ouadghiri S., 2012. Valeur diagnostique des auto-anticorps dans les maladies auto-immunes. *Biologie Spécialisée*. vol. 27: 233-236.
15. Attia S., Attig C., Hamzaoui A., Harzallah O., Kairallah M., Mahjoub S., Njim L., Zachama A., 2010. Le syndrome de Goujerot-Sjögren juvénile. À propos de 3 cas *Archives de Pédiatrie*, vol. 17: 1531-1534.
16. Bagnasco M., Grassia L., Pesce G., 2007. The management of the patient with unexpected autoantibody positivity. *Autoimmun Rev*, vol. 6: 53-347.
17. Bahon-Riedinge I., Beauvillain C., Carrère F., Chevailler A., 2002. Étude d'un test dot-blot de recherche des anticorps anti-antigènes nucléaires solubles. *Française des Laboratoires*. P: 49-54.
18. Bas S., 2005. Utilité des anticorps antiprotéines citrullinées dans le diagnostic et le pronostic de la polyarthrite rhumatoïde. *Rev Med Suisse*, vol. 1. 30229.
19. Beauvillain C., Carrère F., Chevailler A., 2006. Dépistage des anticorps dirigés contre les antigènes nucléaires solubles. *Fr Lab*, vol. 384: 59-70.
20. Benveniste O., Dubourg O., Herson S., 2007. Nouvelles classifications et physiopathologie des myopathies inflammatoires. *Rev Med Interne*, vol. 28: 12-603.
21. Bernard C., 2013. L'immunopathologie pour le praticien. Chapitre 14. P : 3.
22. Blanco P., 2019. Maladies auto-immunes : quand le corps se retourne contre lui-même. *Fondation pour la recherche médicale. Recherche & santé*, vol. 158: 21-27.
23. Bodolay E., Szegedi G., 2003. Undifferentiated connective tissue disease. Article *in Hungarian*, vol. 50(19): 72-867.
24. Bougaada F. et Boussaid M., 2015. La détection des auto-anticorps antinucléaires dans les maladies auto-immunes systémiques. *Université des Frères Mentouri Constantine*. P : 15-56.
25. Buchanan R., Riglar A., 1989. The titre of anti-centromere antibodies: its relationship to Raynaud's phenomenon and vascular occlusion. *Pub Med*, vol. 28(3): 6-221.
26. Büttner T., Conrad K., Hiemann R., Krieger T., Roggenbuck D., Sack U., 2009. Challenges of automated screening and differentiation of non-organ specific autoantibodies on HEp-2 cells. *Autoimmunity*, vol. 9: 17-22.
27. Candore G., Grimaldi MP., Listi F., *et al.*, 2002. Prevalence of nonorgan-specific autoantibodies in healthy centenarians. *Arch Gerontol Geriatr Suppl*, vol. 35: 75-80.

28. Caquet R., 2008. Anticorps anti-antigènes nucléaires solubles ou anticorps anti-ENA Anticorps antihistones. Guide infirmier des examens de laboratoire, vol. 21: 34-35.
29. Carvajal G., Devauchelle Pensec V., Guellec D., Saraux A., 2015. Existe-il des atteintes neurologiques spécifiques du syndrome de Sjögren primitif ?. *Rhumatisme*, vol. 82: 14-17.
30. Castro C., Gourley M., 2010. Diagnostic testing and interpretation of tests for autoimmunity. *J Alle Clin Immun*, vol. 256:125-364.
31. Chakar Ch., 2015. Profil des anticorps anti-nucléaires des patients consultant à l'institut Pasteur du Maroc. Thèse de doctorat à l'université SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH. Maroc. P : 1-18.
32. Chamoux A., Delévaux I., 2013. Aumaître Stress et auto-immunité. *Médecine Interne*. 34:487-492.
33. Charrié A., 2005. Le point sur l'auto-immunité thyroïdienne. *Spectra Biologie*, vol. 143: 36.
34. COFER : Collège français des enseignants en rhumatologie, 2011. Maladies auto-immunes. Université médicale virtuelle francophone. Paris. P : 3-9.
35. Combe B., 2007. Polyarthrite rhumatoïde : clinique et diagnostic, Appareil locomoteur. P : 14-220.
36. Cotton A., Hachulla E., Launay D., Lefebvre G., Mouly J., 2013. Maladies systémiques et vascularites. *Imagerie Musculosquelettique*. Chapitre 7, vol. 41:219-258
37. Coughlin G., Denton C., Handler C., Harvey J., Lynch B., Nihtyanova S., Schreiber B., Sobanski, 2013. Connectivite mixte (syndrome de Sharp) et hypertension pulmonaire. *Médecine Interne*, vol. 34: 45-46.
38. Daumas A., Eraud J., Granel B., Hautier A., Magalon G., Sabatier F., 2013. Potentialités et intérêt du tissu adipeux dans la sclérodermie. *Médecine Interne*, vol. 34: 763-769.
39. Dighiero G., Oppezzo P., 2003. Autoanticorps, tolérance et auto-immunité. *Pathologie Biologie*, vol. 51 (5) : 297-304.
40. Dueymes M., Guerrier T., Jousse S., Renaudineau Y., Youinou P., 2007. Anticorps anti- α -actinine et anticorps anti-C1q: deux nouveaux « marqueurs » pour la glomérulonéphrite lupique. *Immuno-analyse et biologie spécialisée*, vol. 22: 195-201.
41. Edwards A., Ollier W., Perry I., Spector T., Silmana J., Thompson P., 1989. Free and serum testosterone levels in 276 males: a comparative study of rheumatoid arthritis, ankylosing spondylitis and healthy controls. *Clin Rheumatol*, vol. 8: 37-41.

42. Emile C., 2012. Les Anticorps anti-ADN d'après une communication de Pascale Chrétien lors du 7e colloque GEAI, Paris, vol. 40: 1.
43. Emile C., 2017. Dosage des auto-anticorps et interprétation, vol. 28: 17-24.
44. Eriksson C., Johansson M., Kokkonen H., *et al.*, 2011. Autoantibodies in systemic lupus erythematosus: Revisited. *Indian Journal of Rheumatology*, vol. 6: 138-142.
45. Eymard B., 2014. La myasthénie du côté de l'interniste. *Médecine Interne*, vol. 35: 421-429.
46. Fekia S., Frikhab F., Ben Hadj H., Abeda S., Ben Ayeda M., Turkic H., Hachichad J., Bakloutie S., Bahloulb Z., Masmoudia M., 2012. Suites opératoires en rééducation après arthroplastie du genou : étude rétrospective à propos de 90 patients, vol. 33 : 475-481.
47. Goetz J., 2012. Conduite à tenir devant la mise en évidence d'anticorps antinucléaires sur HEp-2. *Francophone des Laboratoires.*, vol. P : 7-11.
48. Goetz J., AC., 2005. Immunofluorescence indirecte. *GEAI L'INFO Spécial*. P : 2-5.
49. Hachulla E., Dubucquoi S., 2004. Intérêt des anticorps antinucléaires pour le diagnostic, la classification et le pronostic de la sclérodermie systémique. *Rev Med Interne*, vol. 25: 7-442.
50. Hachulla E., Launay D. 2007. Complications maternelles graves des maladies systémiques auto-immunes *Réanimation*, vol. 16: 393-402.
51. Harb A., Jeddi M., Guedira I., Chemli J., Korbi S., Yacoubi T., 2004. Connectivite mixte révélée par une méningite lymphocytaire chronique chez un nourrisson. *Archives de Pédiatrie*, vol. 11:126-129.
52. Hayter SM., et Cook M., 2012. Updated assessment of the prevalence, spectrum and case definition of autoimmune disease. *Autoimmun Rev*, vol. 11 (10): 65-754.
53. Helen C., Mansel, 2006. *Immunologie clinique: De la théorie à la pratique, avec cas cliniques.*
54. Hildebrandt S., Weiner E., Senecal J., *et al.*, 1990. The IgG, IgM, and IgA isotypes of anti-topoisomerase I and anticentromere autoantibodies. *Arthritis Rheum*, vol. 33 (5): 7-724.
55. Holborow E., Weir DM., Johnson GD., *Brit Med J.*, 1957. A serum factor in lupus erythematosus with affinity for tissue nuclei. P: 732-734.
56. Huck S., Zouali.M., 1996. Facteurs liés au sexe et pathologies auto-immunes. *Annales de l'Institut Pasteur / Actualités*, vol. 7:143-146.
57. Hugo M., 2006. Le rôle de l'autoantigène dans les maladies auto-immunes : Etude de la desmogleine au cours des pemphigus.

58. Humbel R., 2000. Intérêt de la recherche des autoanticorps dans les maladies autoimmunes. Laboratoire de biochimie et immunopathologie. Biologie et santé, vol. 1 (1) : 66-67.
59. Humbel R., 2005. L'immunodot. GEAI L'INFO. Spécial. P: 13-14.
60. Humbel R., 2016. Comment rechercher les auto-anticorps ? Choix et performances des méthodes. Revue Francophone des Laboratoires, vol. 484 (1): 11-14.
61. Humble R., 1997. Auto-anticorps et maladies auto-immunes. 2^e édition. Edition scientifiques et médicales. Ed. Elsevier, P: 17-88.
62. Johnson MB., Hattersley AT., Flanagan SE., 2016. Monogenic autoimmune diseases of the endocrine system. Lancet Diabetes Endocrinol, vol. 4: 862-872.
63. Kałnik-Prastowska I., 2009. Immunochemia w biologii medycznej. Warszawa: PWN.
64. Khan M. et Wang G., 2017. Environmental Agents, Oxidative Stress and Autoimmunity. Vol. 7.
65. Kristiansen OP., Larsen ZM., and Pociot F., 2000. CTLA-4 in autoimmune diseases a general susceptibility gene to autoimmunity. Genes Immun, vol. 1 (3): 84-170.
66. Kuby J., 2008. Immunologie. 6^{ème} édition. P: 155-161.
67. Lamdarsi O., 2018. Diagnostic biologique des maladies auto-immunes systémiques. Thèse de doctorat à l'université de Mohammed V-RABAT. P : 2-70.
68. Lassoued K., Coppo P., Gouilleux-Gruart V. 2005. Place des anticorps antinucléaires en pratique clinique. Ed. Elsevier, vol. 14: 651–656.
69. Launay D., Duhamel A., Hachulla E., Reumaux D., Schmidt J. *et al.*, 2010. Comparison of the Farr radioimmunoassay, 3 commercial enzyme immunoassays and *Crithidia luciliae* immunofluorescence test for diagnosis and activity assessment of systemic lupus erythematosus, vol. 411: 959-964.
70. Liu L., Wang L., 2014. HEp-2 cell image classification with multiple linear descriptors. Pattern Recognition, vol. 47: 2400-2408.
71. Luc Mouthon S., Lacroix-Desmazes, & Loic Guillevin, Srini V., Kaveri, Antonio Coutinho, et Michel D., Kazatchkine, 1999. La reconnaissance immunologique du soi: quelles frontières entre autoréactivité physiologique et pathologie auto-immune, ipubli.inserm.fr.
72. Lyons R., Natain S., Nichols C. *et al.*, 2005. Effective use of autoantibody tests in the diagnosis of systemic autoimmune disease, vol. 1050: 28-217.

73. Madsen H., Forslid J., Wiik AS., *et al.*, 2010. Antinuclear antibodies. A contemporary nomenclature using HEp-2 cells, vol. 35: 90-276.
74. Magnant J., et Diot E., 2006. Sclérodémie systémique: épidémiologie et facteurs environnementaux. *La Presse Médicale*, vol. 35 (12) : 1894-1901.
75. Matzinger P., 2002. The danger model: à renewed sense of self. *Science*, vol. 296 (5566): 5-301.
76. Meyer O., 2010. Lupus et syndrome des anticorps antiphospholipides. Critères de diagnostic et de suivi, vol. 77: 8-82.
77. Mieli-Vergani G., 2008. Autoimmune paediatric liver disease. *World J Gastroenterol*, vol. 14: 7-3360.
78. Mosca L., Banka CL., Benjamin EJ., Berra K., Bushnell C., Dolor RJ., Ganiats TG. *et al.*, 2007. Evidence-based guidelines for cardiovascular disease prevention in women. *Pub Med*, vol. 115(11): 501-1481.
79. Musset L., 1999. Les anticorps anti-nucléaires: méthodes de détection et interprétation cahier bioforma, vol. 13: 39-72.
80. Nilsson BO., Skogh T., Ernerudh J., *et al.*, 2006. Antinuclear antibodies in the oldest-old women and men. *J Autoimmun*, vol. 27: 281-288.
81. Olsson N., 2005. La technologie Luminex® : application à la recherche des autoanticorps. *GEAI L'INFO Spécial*. P: 24-28.
82. Orgiazzi J., 1999. The spectrum of autoimmune thyroid disease (AITD). *Med. Interne*, vol. 150: 294-300.
83. Petitpierre S., Aubert V., Leimgruber A., Bart Pi., Spertini F., 2009. Utilité de la recherche des autoanticorps dans la pratique quotidienne. *Rev Med Suisse*; vol. 5: 823-831.
84. Pisetsky DS., Vrabie IA., 2009. Antibodies to DNA: Lupus infection or genetics, vol. 18: 80-1176.
85. Pollard KM., 2012. Gender differences in autoimmunity associated with exposure to environmental factors. *J Autoimmun*, vol. 38 (2-3): 77-86.
86. Régent A. *et al.*, 2009. Auto-immunité humorale et cellulaire : de la physiologie à la pathologie. *La Revue de Médecine Interne*, vol. 12 (1): 1-8.
87. Reichlin M., Shmerling RH., Romain PL., 2008. Clinical significance of anti-Ro/SSA and anti-La/SSB antibodies. *Uptodate; version*, vol. 16: 3.

88. Renaudineau Y., et Younioun P., 2006. LES nouveaux autoanticorps du syndrome de Gougerot-sjogern primaire. New autoantibodies in Gougerot-sjogern. Immuno-analyse et biologie spécialisée, vol. 21: 158-164.
89. Reveille JD., Solomon DH., *et al.*, 2003. Evidence-based guidelines for the use of immunologic tests: Anticentromere Scl-70 and nucleolar antibodies. *Arthritis Rheum*, vol. 49: 399-412.
90. Saraux A., 2013. L'immunopathologie pour le praticien. Fiche du Club Rhumatismes et inflammations, chapitre 12: 4-19.
91. Schulte-Pelkum J., Fritzler M., Mahler M., 2009. "Latest update on the Ro/SS-A autoantibody system," *Autoimmunity Reviews*, vol. 8 (7): 632-637.
92. Selmi C., Ceribelli A., Generali E. *et al.*, 2016. Serum antinuclear and extractable nuclear antigen antibody prevalence and associated morbidity and mortality in the general population over 15 years. In *Thérapeutiques en Dermato-Vénérologie. Autoimmun Rev*, vol. 256 (15): 162-166.
93. Sharp G., Irvin WS., Tan EM., Gould RG., Holman HR., 1972. Mixed connective tissue diseasean apparently distinct rheumatic disease syndrome associated with a specific antibody to an extractable nuclear antigen (ENA). *Am J Med*, vol. 52: 59-148.
94. Sibilila J., 2002. Auto-anticorps. Intérêt diagnostique et pronostique en réanimation médicale *Réanimation*, vol. 11: 349-358.
95. Souabni L., Meddeb N., Ksibi I., Zitouni M., Sahli H., Elleuch M., *et al.*, 2007. Profil clinique et paraclinique de la polyarthrite rhumatoïde à anticorps antinucléaires positifs. *Rev Rhum*, vol. 74: 1044.
96. Subra J., 2004. Silice et auto-immunité. *Française des Laboratoires* : 23-25.
97. Talagas M., Ieduc J., 2007 Module 8, Immunopathologie, Réaction inflammatoire.
98. Tan EM., Feltkamp TEW., Smolen JS *et al.*, 1997. Range of antinuclear antibodies in healthy individuals". *Arthritis Rheum*, vol. 40: 1601-1611.
99. Tron F., 2014. Les auto-anticorps comme biomarqueurs. *La Presse Médicale*, vol. 43: 57-65.
100. Van der Geest KS., Lorencetti PG., Abdulahad WH., *et al.*, 2016. Aging-dependent decline of IL-10 producing B cells coincides with production of antinuclear antibodies but not rheumatoid factors. *Exp Gerontol*, vol. 75: 24-29.
101. Weill B., 2003. Laboratoire d'immunologie. Faculté de médecine Cochin-port Royal. http://Lvts.fr/pages_html/Encyclopedies/cours%20Immuno/chapitre%2024.htm.

102. Wijeyesinghe U., Russell AS., 2008. Outcome of high titer antinuclear antibody positivity in individuals without connective tissue disease: a 10-year follow-up. *Clin Rheumatol*, vol. 27: 402-1399.
103. Ząbek J., 2013. Wsparcie diagnostyczne w rozpoznaniu schorzeń z autoimmunizacją.
104. Zampieri S., Ghirardello A., Laccarino L., *et al.*, 2005. AntiJo-1 antibodies. *Autoimmunity*, vol. 38: 8-73.
105. Zandman-Goddard G., Peeva E., and Shoenfeld Y., 2007. Gender and autoimmunity. *Autoimmun Rev*, vol. 6 (6): 72-366.

Annexe

Annexe 01

Fiche d'exploitation des patients

Données relatives au patient(e)

• **Nom :**

• **Prénom :**

• **Tel :**

• **Sexe :**

Un homme

Une femme

• **Age :**

.....

• **Origine :**

.....

• **Ville de résidence :**

.....

• **Profession :**

.....

• **Statut marital :**

Célibataire

Marié(e)

Veuf (ve)

Divorcé(e)

• **Niveau d'instruction :**

.....

• **Hygiène de vie :**

Non-fumeur

Alcoolique

Fumeur

Non alcoolique

• **Type de MAI :**

.....

• **Age de début :**

.....

• **Mode d'installation :**

Aigue

Subaiguë

Progressive

• **Provenance du bilan de MAI :**

Médecins généralistes

Médecin interniste

Rhumatologue

Dermatologue

Centres hospitaliers

Autre.....

• **Date de diagnostic de la maladie :**

.....

• **Age de diagnostic :**

.....

• **Début des symptômes :**

.....

• **Délai de diagnostic :**

.....

• **Grossesse en cours :** Oui Non

• **Antécédents Personnels :**

- Médicaux : Oui Non

• **Si oui, quel(s) type du médicament(s) ?**

.....

- Cardiovasculaires : Oui Non

- Néoplasiques : Oui Non

• **Si oui, quel(s) type du néoplasme(s) ?**

.....

- Chirurgicaux : Oui Non

• **Si oui, pourquoi ? et quand ?**

.....

.....

- Infectieux : Oui Non

• **Si oui, quel(s) type d'infection(s) ?**

.....

- Toxiques : Oui Non

• **Si oui, quel(s) type d'intoxication(s) ?**

.....

- Allergiques : Oui Non

• **Si oui, quel(s) type d'allergie(s)?**

.....

• **Antécédents familiaux :**

Oui Non

• **Si oui, quel type de MAI ?**

.....

• **Date du dernier control ?**

.....

• **Signes cliniques :**

Atteintes dermatologiques : Oui Non

Atteintes rhumatologiques : Oui Non

Atteintes rénale : Oui Non

Atteintes neurologiques : Oui Non

Atteintes cardiaques : Oui Non

Atteintes respiratoires : Oui Non

Atteintes vasculaires : Oui Non

Autres :

.....

• **Signes révélateurs :**

Altération de l'état général

Douleurs chroniques

Atteinte cutanée telle que livedo, Rash malaire

Arthralgies / rhumatismes inflammatoires

Troubles digestives

Ulcérations buccales

Symptômes neurologiques atypiques

Convulsions ou psychose

Péricardite

Photosensibilité

Dysthyroïdie

Signes obstétricaux

Syndrome inflammatoire biologique

Atteinte rénale : Protéinurie > 0,5 g/24h ou cylindre urinaire

Atteinte hématologique :

a) anémie hémolytique

b) ou leucopénie : < 4.000/mm³

c) ou lymphopénie : < 1.500/mm³

d) thrombopénie : < 100.000/mm³

Autres signes révélateurs :

.....

.....

.....

- **Autres données biologiques, radiologiques, et biopsies :**

.....

- **Début du traitement :**

.....

- **Traitement :**

a) Symptomatique : - Antalgiques

- AINS

b) Corticoïdes

c) Immunosuppresseurs

- **Complications :**

.....

.....

.....

- **Technique(s) utilisée(s) pour le dépistage**

et/ou le dosage des ANA :

ELISA

IFI

Western Blot

Immuno-Dot

IFI + ELISA

IFI + Immuno-DOT

IFI + Western Blot

ELISA + Western Blot

ELISA + Immuno-Dot

Résumés

Résumé

Ce travail repose sur une étude rétrospective de 102 patients exprimant des anticorps antinucléaires positifs dans la région du Sahara Septentrional Est algérien. Nous avons procédé à l'analyse des profils d'ANA et des caractéristiques cliniques chez certains patients. Les ANA ont été recherchés par la technique d'Immunofluorescence Indirecte chez le premier groupe de patients soit 58% et par ELISA et Immunodot chez le deuxième groupe de patients soit 42%. Les résultats épidémiologiques révèlent une prédominance féminine avec un pourcentage de 81% et un sex-ratio de 4.21. La tranche d'âge la plus touchée était entre 41 et 50 ans. Le titre d'ANA peut donner une suggestion potentielle sur l'évolution de la maladie, mais il reste interprétable selon l'âge et le cas clinique du patient. L'aspect moucheté soit 57% est le plus dominant chez le premier groupe de patients, alors que les types d'ANA les plus abondants dans le deuxième groupe de patients, notamment chez les femmes est celui de l'Anti-SSA avec 19% suivi de l'Anti-DNA avec 14%, et avec moindre pourcentage les Anti-SSB avec 7%, les Anti-nucléosome et anti-AMA-Mi2 avec 4% pour chacun, les Anti-Histone et Anti-Sm avec 3% pour chacun et l'Anti-CENP B et Anti-RNP/SM avec 2% pour chacun. La PR, le SGS, l'anémie hémolytique et La cirrhose biliaire primitive sont les MAI diagnostiquées chez uniquement 6 patients. Dans certains profils d'ANA, la spécificité antigénique des Anti-ENA indéterminée peut être dépendante de la demande du médecin dans le bilan de l'auto-immunité ou de la disponibilité de la technique d'identification. L'établissement d'un profil biologique individuel comportant les taux du CRP, la VS et FNS associés à un bilan viscéral peut aider les médecins à une meilleure prise en charge de la maladie et peut permettre aussi à un meilleur accès aux protocoles thérapeutiques.

Mots clés : Etude rétrospective, Auto-anticorps antinucléaire, Maladies auto-immunes, Immunofluorescence Indirecte, ELISA, Immunodot,

Abstract

This work is based on a retrospective study of 102 patients expressing positive antinuclear antibodies in the region of the Algerian North Eastern Sahara. We have analyzed ANA profiles and clinical features in some patients. The ANA were investigated by the indirect immunofluorescence technique in the first group of patients (58%), by ELISA and Immunodot in the second group of patients (42%). The epidemiological results reveal a female predominance with a percentage of 81% and a sex ratio of 4.21. The most affected age group was between 41 and 50 years old. The title of ANA may give a potential suggestion on the course of the disease, but it remains interpretable according to the age and clinical case of the patient. The speckled aspect is 57% is the most dominant in the first group of patients, while the most abundant types of ANA in the second group of patients, especially in women is that of the Anti-SSA is 19% followed by Anti-DNA 14%, and with a lower percentage Anti-SSB with 7%, Anti-nucleosome and anti-AMA-Mi2 with 4% for each, Anti-Histone and Anti-Sm with 3% for each and the Anti-CENP B and Anti-RNP / SM with 2% for each. RA, SGS, haemolytic anemia and primary biliary cirrhosis are the MAY diagnosed in only 6 patients. In some ANA profiles, the antigenic specificity of undetermined anti-ENA may be dependent on the physician's request in the assessment of autoimmunity or the availability of the identification technique. The establishment of an individual biological profile with CRP, VS and NSF levels associated with a visceral assessment can help physicians to better manage the disease and may also allow better access to therapeutic protocols.

Key words: Retrospective study, Antinuclear autoantibody, Autoimmune diseases, Indirect immunofluorescence, ELISA, Immunodot,

ملخص

يستند هذا العمل على دراسة بأثر رجعي شملت 102 مريضاً لديهم أجسام مضادة ذاتية ضد النواة في منطقة شمال شرق صحراء الجزائر. لقد قمنا بتحليل ملفات الاجسام المضادة للنواة والسمات السريرية عند بعض المرضى. تم الكشف عن هذه المستضادات الذاتية بتقنية المناعي غير المباشر في المجموعة الأولى من المرضى (58%) وبتقنية الانزيم المناعي والتبصيم المناعي البقي في المجموعة الثانية من المرضى (42%). تكشف النتائج الوبائية عن غلبة الإناث بنسبة 81% ونسبة الجنس 4.21. كانت الفئة العمرية الأكثر تضرراً تتراوح بين 41 و 50 سنة. قد يعطي تخفيف مصل المريض اثناء الكشف عن المستضادات الذاتية اقتراحاً محتملاً بشأن تطور المرض، لكنه يظل قابلاً للتفسير وفقاً لعمر المريض وحالته السريرية. الجانب المرقط هو الأكثر انتشاراً بنسبة 57% في المجموعة الأولى من المرضى، في حين أن أكثر أنواع المضادات الذاتية تواجداً في المجموعة الثانية من المرضى، خاصة عند النساء هي الاجسام المضادة للSSA بنسبة 19% تليها المضادة للحمض النووي بنسبة 14%، وبنسبة مئوية أقل الاجسام المضادة للSSB بنسبة 7%، المضادة للAMA-Mi2 بنسبة 4%، المضادة للAnti-Sm بنسبة 3% و Anti-CENP و Anti-RNP / SM بنسبة 2% لكل منهما. التهاب المفاصل الروماتويدي، متلازمة سجوجرن، فقر الدم الانحلالي والتليف الصفراوي الأولي هي امراض المناعة الذاتية التي تم تشخيصها عند 6 مرضى فقط. في بعض ملفات مستضادات الضد الذاتية، قد يعتمد تعريف خصوصية الجسم المضاد لمولدات الضد النووية الذاتية السائلة على طلب الطبيب في تقييم المناعة الذاتية أو توفر تقنية تحديد النوع. ان إنشاء صورة بيولوجية فردية تحتوي على قيم البروتين التفاعلي C، سرعة الترسيب، ملف صيغ الدم وصور للاعضاء الداخلية يمكن أن يساعد الأطباء على إدارة المرض بشكل أفضل وقد يتيح أيضاً الوصول بشكل أفضل إلى البروتوكولات العلاجية.

الكلمات المفتاحية: دراسة بأثر رجعي، الجسم المضاد النووي الذاتي، أمراض المناعة الذاتية، تقنية المناعي غير المباشر، تقنية الانزيم المناعي، التبصيم المناعي البقي.

Résumé

Ce travail repose sur une étude rétrospective de 102 patients exprimant des anticorps antinucléaires positifs dans la région du Sahara Septentrional Est algérien. Nous avons procédé à l'analyse des profils d'ANA et des caractéristiques cliniques chez certains patients. Les ANA ont été recherchés par la technique d'Immunofluorescence Indirecte chez le premier groupe de patients soit 58%, par ELISA et Immunodot chez le deuxième groupe de patients soit 42%. Les résultats épidémiologiques révèlent une prédominance féminine avec un pourcentage de 81% et un sex-ratio de 4.21. La tranche d'âge la plus touchée était entre 41 et 50 ans. Le titre d'ANA peut donner une suggestion potentielle sur l'évolution de la maladie, mais il reste interprétable selon l'âge et le cas clinique du patient. L'aspect moucheté soit 57% est le plus dominant chez le premier groupe de patients, alors que les types d'ANA les plus abondants dans le deuxième groupe de patients, notamment chez les femmes est celui de l'Anti-SSA soit 19% suivi de l'Anti-DNA soit 14%, et avec moindre pourcentage les Anti-SSB avec 7%, les Anti-nucléosome et anti-AMA-Mi2 avec 4% pour chacun, les Anti-Histone et Anti-Sm avec 3% pour chacun et l'Anti-CENP B et Anti-RNP/SM avec 2% pour chacun. La PR, le SGS, l'anémie hémolytique et La cirrhose biliaire primitive sont les MAI diagnostiquées chez uniquement 6 patients. Dans certains profils d'ANA, la spécificité antigénique des Anti-ENA indéterminée peut être dépendante de la demande du médecin dans le bilan de l'auto-immunité ou de la disponibilité de la technique d'identification. L'établissement d'un profil biologique individuel comportant les taux du CRP, la VS et FNS associés à un bilan viscéral peut aider les médecins à une meilleure prise en charge de la maladie et peut permettre aussi à un meilleur accès aux protocoles thérapeutiques.

Mots clés : Etude rétrospective, Auto-anticorps antinucléaire, Maladies auto-immunes, Immunofluorescence Indirecte, ELISA, Immunodot,

Abstract

This work is based on a retrospective study of 102 patients expressing positive antinuclear antibodies in the region of the Algerian North Eastern Sahara. We have analyzed ANA profiles and clinical features in some patients. The ANA were investigated by the indirect immunofluorescence technique in the first group of patients (58%), by ELISA and Immunodot in the second group of patients (42%). The epidemiological results reveal a female predominance with a percentage of 81% and a sex ratio of 4.21. The most affected age group was between 41 and 50 years old. The title of ANA may give a potential suggestion on the course of the disease, but it remains interpretable according to the age and clinical case of the patient. The speckled aspect is 57% is the most dominant in the first group of patients, while the most abundant types of ANA in the second group of patients, especially in women is that of the Anti-SSA is 19% followed by Anti-DNA 14%, and with a lower percentage Anti-SSB with 7%, Anti-nucleosome and anti-AMA-Mi2 with 4% for each, Anti-Histone and Anti-Sm with 3% for each and the Anti-CENP B and Anti-RNP / SM with 2% for each. RA, SGS, haemolytic anemia and primary biliary cirrhosis are the MAY diagnosed in only 6 patients. In some ANA profiles, the antigenic specificity of undetermined anti-ENA may be dependent on the physician's request in the assessment of autoimmunity or the availability of the identification technique. The establishment of an individual biological profile with CRP, VS and NSF levels associated with a visceral assessment can help physicians to better manage the disease and may also allow better access to therapeutic protocols.

Key words: Retrospective study, Antinuclear autoantibody, Autoimmune diseases, Indirect immunofluorescence, ELISA, Immunodot.

ملخص

يستند هذا العمل على دراسة بأثر رجعي شملت 102 مريضاً لديهم أجسام مضادة ذاتية ضد النواة في منطقة شمال شرق صحراء الجزائر. لقد قمنا بتحليل ملفات الاجسام المضادة للنواة والسمات السريرية عند بعض المرضى. تم الكشف عن هذه المستضادات الذاتية بتقنية المناعي غير المباشر في المجموعة الأولى من المرضى (58%) وبتقنية الانزيم المناعي والتبصيم المناعي البقي في المجموعة الثانية من المرضى (42%). تكشف النتائج الوبائية عن غلبة الإناث بنسبة 81% ونسبة الجنس 4.21. كانت الفئة العمرية الأكثر تضرراً تتراوح بين 41 و 50 سنة. قد يعطي تخفيف مصل المريض أثناء الكشف عن المستضادات الذاتية اقتراحاً محتملاً بشأن تطور المرض، لكنه يظل قابلاً للتفسير وفقاً لعمر المريض وحالته السريرية. الجانب المرقط هو الأكثر انتشاراً بنسبة 57%. في المجموعة الأولى من المرضى، في حين أن أكثر أنواع المضادات الذاتية تواجداً في المجموعة الثانية من المرضى، خاصة عند النساء هي الاجسام المضادة للSSA بنسبة 19%. تليها المضادة للحمض النووي بنسبة 14%، وبنسبة مئوية أقل الاجسام المضادة للSSB بنسبة 7%، المضادة للAMA-Mi2 بنسبة 4%، المضادة للAnti-Sm بنسبة 3% و Anti-CENP و Anti-RNP / SM بنسبة 2% لكل منهما. التهاب المفاصل الروماتويدي، متلازمة سجوجرن، فقر الدم الانحلالي والتليف الصفراوي الأولي هي امراض المناعة الذاتية التي تم تشخيصها عند 6 مرضى فقط. في بعض ملفات مستضادات الضد الذاتية، قد يعتمد تعريف خصوصية الجسم المضاد لمولدات الضد النووية الذاتية السائلة على طلب الطبيب في تقييم المناعة الذاتية أو توفر تقنية تحديد النوع. ان إنشاء صورة بيولوجية فردية تحتوي على قيم البروتين التفاعلي C، سرعة الترسيب، ملف صيغ الدم وصور للاعضاء الداخلية يمكن أن يساعد الأطباء على إدارة المرض بشكل أفضل وقد يتيح أيضاً الوصول بشكل أفضل إلى البروتوكولات العلاجية.

الكلمات المفتاحية: دراسة بأثر رجعي، الجسم المضاد النووي الذاتي، أمراض المناعة الذاتية، تقنية المناعي غير المباشر، تقنية الانزيم المناعي، التبصيم المناعي البقي.