



كلية الطب  
والصيدلة - مراكش  
FACULTÉ DE MÉDECINE  
ET DE PHARMACIE - MARRAKECH

Année 2019

Thèse N° 94

# Diagnostic immunologique des aspects cytoplasmiques à l'immunofluorescence indirecte

THÈSE

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 23 /04/2019

PAR

Mlle. **Bahia el Azzouzi**

Née Le 10 avril 1993 à Marrakech

POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MÉDECINE

MOTS-CLÉS

AAN, immunofluorescence indirecte, aspect cytoplasmique, auto-anticorps, maladies auto-immunes

JURY

Mr	<b>S. ZOUHAIR</b> Professeur de microbiologie	PRESIDENT
Mr	<b>B. ADMOU</b> Professeur d'immunologie	RAPPORTEUR
Mme.	<b>L. ADARMOUCH</b> Professeur agrégé d'épidémiologie clinique	
Mr	<b>M. AIT AMEUR</b> Professeur agrégé d'hématologie biologie	JUGES
Mme	<b>S. OUBAHA</b> Professeur agrégé de physiologie	

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

قَالُوا سُبْحَانَكَ لَا عِلْمَ لَنَا إِلَّا مَا عَلَّمْتَنَا إِنَّكَ أَنْتَ الْعَلِيمُ

الْحَكِيمُ ٣٢

صَدِّقَ وَاللَّهُ الْعَظِيمِ

(سورة البقرة)



# *Serment d'hippocrate*

*Au moment d'être admis à devenir membre de la profession médicale,  
je m'engage solennellement à consacrer ma vie au service de l'humanité.*

*Je traiterai mes maîtres avec le respect et la reconnaissance qui leur sont dus.*

*Je pratiquerai ma profession avec conscience et dignité. La santé  
de mes malades sera mon premier but.*

*Je ne trahirai pas les secrets qui me seront confiés.*

*Je maintiendrai par tous les moyens en mon pouvoir l'honneur  
et les nobles traditions de la profession médicale.*

*Les médecins seront mes frères.*

*Aucune considération de religion, de nationalité, de race, aucune considération  
politique et sociale, ne s'interposera entre mon devoir et mon patient.*

*Je maintiendrai strictement le respect de la vie humaine dès sa conception.*

*Même sous la menace, je n'userai pas mes connaissances médicales d'une façon  
contraire aux lois de l'humanité.*

*Je m'y engage librement et sur mon honneur.*

**Déclaration Genève, 1948**



*LISTE DES PROFESSEURS*



**UNIVERSITE CADI AYYAD**  
**FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE**  
**MARRAKECH**

Doyens Honoraires

: Pr. Badie Azzaman MEHADJI

: Pr. Abdelhaq ALAOUI YAZIDI

**ADMINISTRATION**

Doyen

: Pr. Mohammed BOUSKRAOUI

Vice doyen à la Recherche et la Coopération

: Pr. Mohamed AMINE

Vice doyen aux Affaires Pédagogiques

: Pr. Redouane EL FEZZAZI

Secrétaire Générale

: Mr. Azzeddine EL HOUDAIGUI

**Professeurs de l'enseignement supérieur**

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
ABKARI Imad	Traumato-orthopédie B	FINECH Benasser	Chirurgie - générale
ABOU EL HASSAN Taoufik	Anesthésie-reanimation	FOURAJI Karima	Chirurgie pédiatrique B
ABOULFALAH Abderrahim	Gynécologie-obstétrique	GHANNANE Houssine	Neurochirurgie
ABOUSSAIR Nistrine	Génétique	HAJJI Ibtissam	Ophthalmologie
ADERDOUR Lahcen	Oto-rhino-laryngologie	HOCAR Ouafa	Dermatologie
ADMOU Brahim	Immunologie	JALAL Hicham	Radiologie
AGHOUTANE El Mouhtadi	Chirurgie pédiatrique A	KHALLOUKI Mohammed	Anesthésie-réanimation
AIT BENALI Said	Neurochirurgie	KHATOURI Ali	Cardiologie
AIT BENKADDOUR Yassir	Gynécologie-obstétrique A	KHOUCHANI Mouna	Radiothérapie
AIT-SAB Imane	Pédiatrie	KISSANI Najib	Neurologie
AKHDARI Nadia	Dermatologie	KOULALI IDRISSE Khalid	Traumato-orthopédie
AMAL Said	Dermatologie	KRATI Khadija	Gastro-entérologie
AMINE Mohamed	Epidémiologie-clinique	LAGHMARI Mehdi	Neurochirurgie
AMMAR Haddou	Oto-rhino-laryngologie	LAKMICH Mohamed Amine	Urologie
AMRO Lamyae	Pneumo-phtisiologie	LAOUAD Inass	Néphrologie

ARSALANE Lamiae	Microbiologie - Virologie	LOUZI Abdelouahed	Chirurgie - générale
ASMOUKI Hamid	Gynécologie- obstétrique B	MADHAR Si Mohamed	Traumato- orthopédie A
ASRI Fatima	Psychiatrie	MAHMAL Lahoucine	Hématologie - clinique
BENCHAMKHA Yassine	Chirurgie réparatrice et plastique	MANOUDI Fatiha	Psychiatrie
BENELKHAÏAT BENOMAR Ridouan	Chirurgie - générale	MANSOURI Nadia	Stomatologie et chiru maxillo faciale
BENJILALI Laila	Médecine interne	MOUDOUNI Said Mohammed	Urologie
BOUAITY Brahim	Oto-rhino- laryngologie	MOUTAJ Redouane	Parasitologie
BOUGHALEM Mohamed	Anesthésie - réanimation	MOUTAOUAKIL Abdeljalil	Ophtalmologie
BOUKHIRA Abderrahman	Biochimie - chimie	NAJEB Youssef	Traumato- orthopédie
BOUMZEBRA Drissi	Chirurgie Cardio- Vasculaire	NARJISS Youssef	Anesthésie- réanimation
BOURROUS Monir	Pédiatrie A	NEJMI Hicham	Rhumatologie
BOUSKRAOUI Mohammed	Pédiatrie A	NIAMANE Radouane	Oto rhino laryngologie
CHAFIK Rachid	Traumato- orthopédie A	NOURI Hassan	Radiologie
CHAKOUR Mohamed	Hématologie	OUALI IDRISSE Mariem	Chirurgie pédiatrique
CHELLAK Saliha	Biochimie- chimie	OULAD SAIAD Mohamed	Chirurgie générale
CHERIF IDRISSE EL GANOUNI Najat	Radiologie	RABBANI Khalid	Oto-rhino- laryngologie
CHOULLI Mohamed Khaled	Neuro pharmacologie	RAJI Abdelaziz	Traumato- orthopédie
DAHAMI Zakaria	Urologie	SAIDI Halim	Anesthésie- réanimation
EL ADIB Ahmed Rhassane	Anesthésie- réanimation	SAMKAOUI Mohamed Abdenasser	Gastro- entérologie
EL ANSARI Nawal	Endocrinologie et maladies métaboliques	SAMLANI Zouhour	Urologie
EL BOUCHTI Imane	Rhumatologie	SARF Ismail	Pédiatrie B

EL BOUIHI Mohamed	Stomatologie et chir maxillo faciale	SBIHI Mohamed	Microbiologie - virologie
EL FEZZAZI Redouane	Chirurgie pédiatrique	SORAA Nabila	Gynécologie-obstétrique A/B
EL HAOURY Hanane	Traumato-orthopédie A	SOUMMANI Abderraouf	Maladies infectieuses
EL HATTAOUI Mustapha	Cardiologie	TASSI Noura	Anesthésie-réanimation
EL HOUDZI Jamila	Pédiatrie B	YOUNOUS Said	Médecine interne
EL KARIMI Saloua	Cardiologie	ZAHLANE Mouna	Microbiologie
ELFIKRI Abdelghani	Radiologie	ZOUHAIR Said	Chirurgie générale
ESSAADOUNI Lamiaa	Médecine interne		

### Professeurs Agrégés

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
ABOUCHADI Abdeljalil	Stomatologie et chir maxillo faciale	FADILI Wafaa	Néphrologie
ADALI Imane	Psychiatrie	FAKHIR Bouchra	Gynécologie-obstétrique A
ADARMOUCH Latifa	Médecine Communautaire (médecine préventive, santé publique et hygiène)	FAKHRI Anass	Histologie-embryologie cytogénétique
AISSAOUI Younes	Anesthésie - réanimation	GHOUNDALE Omar	Urologie
AIT AMEUR Mustapha	Hématologie Biologique	HACHIMI Abdelhamid	Réanimation médicale
AIT BATAHAR Salma	Pneumo-phtisiologie	HAROU Karam	Gynécologie-obstétrique B
ALAOUI Mustapha	Chirurgie-vasculaire périphérique	HAZMIRI Fatima Ezzahra	Histologie - Embryologie - Cytogénétique
ALJ Soumaya	Radiologie	IHBIBANE fatima	Maladies Infectieuses
ANIBA Khalid	Neurochirurgie	KAMILI El Ouafi El Aouni	Chirurgie pédiatrique B
ATMANE El Mehdi	Radiologie	KRIET Mohamed	Ophtalmologie
BAIZRI Hicham	Endocrinologie et maladies métaboliques	LAKOUICHMI Mohammed	Stomatologie et Chirurgie maxillo faciale
BASRAOUI Dounia	Radiologie	LOUHAB Nisrine	Neurologie

BASSIR Ahlam	Gynécologie- obstétrique A	MAOULAININE Fadl mrabih rabou	Pédiatrie (Neonatalogie)
BELBARAKA Rhizlane	Oncologie médicale	MATRANE Aboubakr	Médecine nucléaire
BELKHOU Ahlam	Rhumatologie	MEJDANE Abdelhadi	Chirurgie Générale
BEN DRISS Laila	Cardiologie	MOUAFFAK Youssef	Anesthésie - réanimation
BENHIMA Mohamed Amine	Traumatologie - orthopédie B	MOUFID Kamal	Urologie
BENJELLOUN HARZIMI Amine	Pneumo- phtisiologie	MSOUGGAR Yassine	Chirurgie thoracique
BENLAI Abdeslam	Psychiatrie	OUBAHA Sofia	Physiologie
BENZAROUEL Dounia	Cardiologie	QACIF Hassan	Médecine interne
BOUCHENTOUF Rachid	Pneumo- phtisiologie	QAMOUSS Youssef	Anesthésie- reanimation
BOUKHANNI Lahcen	Gynécologie- obstétrique B	RADA Nouredine	Pédiatrie A
BOURRAHOUEAT Aicha	Pédiatrie B	RAFIK Redda	Neurologie
BSISS Mohamed Aziz	Biophysique	RAIS Hanane	Anatomie pathologique
CHRAA Mohamed	Physiologie	RBAIBI Aziz	Cardiologie
DAROUASSI Youssef	Oto-Rhino - Laryngologie	ROCHDI Youssef	Oto-rhino- laryngologie
DRAISS Ghizlane	Pédiatrie	SAJIAI Hafsa	Pneumo- phtisiologie
EL AMRANI Moulay Driss	Anatomie	SEDDIKI Rachid	Anesthésie - Réanimation
EL BARNI Rachid	Chirurgie- générale	TAZI Mohamed Illias	Hématologie- clinique
EL HAOUATI Rachid	Chiru Cardio vasculaire	ZAHLANE Kawtar	Microbiologie - virology
EL IDRISSE SLITINE Nadia	Pédiatrie	ZAOUI Sanaa	Pharmacologie
EL KHADER Ahmed	Chirurgie générale	ZEMRAOUI Nadir	Néphrologie
EL KHAYARI Mina	Réanimation médicale	ZIADI Amra	Anesthésie - réanimation
EL MGHARI TABIB Ghizlane	Endocrinologie et maladies métaboliques	ZYANI Mohammed	Médecine interne
EL OMRANI Abdelhamid	Radiothérapie		

## Professeurs Assistants

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
ABDELFETTAH Youness	Rééducation et Réhabilitation Fonctionnelle	JALLAL Hamid	Cardiologie
ABDOU Abdessamad	Chiru Cardio vasculaire	JANAH Hicham	Pneumo- phtisiologie
ABIR Badreddine	Stomatologie et Chirurgie maxillo faciale	KADDOURI Said	Médecine interne
AKKA Rachid	Gastro - entérologie	LAFFINTI Mahmoud Amine	Psychiatrie
ALAOUI Hassan	Anesthésie - Réanimation	LAHKIM Mohammed	Chirurgie générale
AMINE Abdellah	Cardiologie	LALYA Issam	Radiothérapie
ARABI Hafid	Médecine physique et réadaptation fonctionnelle	LOQMAN Souad	Microbiologie et toxicologie environnementale
ARSALANE Adil	Chirurgie Thoracique	MAHFOUD Tarik	Oncologie médicale
ASSERRAJI Mohammed	Néphrologie	MARGAD Omar	Traumatologie - orthopédie
BAALLAL Hassan	Neurochirurgie	MILOUDI Mohcine	Microbiologie - Virologie
BABA Hicham	Chirurgie générale	MLIHA TOUATI Mohammed	Oto-Rhino - Laryngologie
BELARBI Marouane	Néphrologie	MOUHSINE Abdelilah	Radiologie
BELBACHIR Anass	Anatomie- pathologique	MOUNACH Aziza	Rhumatologie
BELFQUIH Hatim	Neurochirurgie	MOUZARI Yassine	Ophtalmologie
BELGHMAIDI Sarah	Ophtalmologie	NADER Youssef	Traumatologie - orthopédie
BELHADJ Ayoub	Anesthésie - Réanimation	NADOUR Karim	Oto-Rhino - Laryngologie
BENNAOUI Fatiha	Pédiatrie (Neonatalogie)	NAOUI Hafida	Parasitologie Mycologie
BOUCHENTOUF Sidi Mohammed	Chirurgie générale	NASSIM SABAH Taoufik	Chirurgie Réparatrice et Plastique
BOUKHRIS Jalal	Traumatologie - orthopédie	NYA Fouad	Chirurgie Cardio - Vasculaire

BOUZERDA Abdelmajid	Cardiologie	OUEIAGLI NABIH Fadoua	Psychiatrie
CHETOUI Abdelkhalek	Cardiologie	REBAHI Houssam	Anesthésie - Réanimation
EL HARRECH Youness	Urologie	RHARRASSI Isam	Anatomie- patologique
EL KAMOUNI Youssef	Microbiologie Virologie	SALAMA Tarik	Chirurgie pédiatrique
EL MEZOUARI El Moustafa	Parasitologie Mycologie	SAOUAB Rachida	Radiologie
ELBAZ Meriem	Pédiatrie	SEBBANI Majda	Médecine Communautaire (médecine préventive, santé publique et hygiène)
ELQATNI Mohamed	Médecine interne	SERGHINI Issam	Anesthésie - Réanimation
ESSADI Ismail	Oncologie Médicale	TAMZAOURTE Mouna	Gastro - entérologie
FDIL Naima	Chimie de Coordination Bio- organique	TOURABI Khalid	Chirurgie réparatrice et plastique
FENNANE Hicham	Chirurgie Thoracique	YASSIR Zakaria	Pneumo- phtisiologie
GHAZI Mirieme	Rhumatologie	ZARROUKI Youssef	Anesthésie - Réanimation
GHOZLANI Imad	Rhumatologie	ZIDANE Moulay Abdelfettah	Chirurgie Thoracique
HAMMI Salah Eddine	Médecine interne	ZOUIZRA Zahira	Chirurgie Cardio- Vasculaire
Hammoune Nabil	Radiologie		

**LISTE ARRÊTÉE LE 12/07/2018**




*DÉDICACES*





*Je me dois d'avouer pleinement ma reconnaissance à toutes les personnes qui m'ont soutenue durant mon parcours, qui ont su me hisser vers le haut pour atteindre mon objectif. C'est avec amour, respect et gratitude que*

*Je dédie cette thèse ...* 

*A Mes Très Chers Parents Mr Moulay el Hassan el Azzouzi et Mme*

*Malika Marouane*

*A ceux qui m'ont donné la vie*

*A ceux qui m'ont toujours tout donné sans rien compter*

*A celui qui a toujours garni mes chemins avec force et lumière, mon cher  
papa*

*A la plus belle perle du monde, ma tendre mère*

*Tous les mots du monde ne sauraient exprimer l'immense amour que je  
vous porte ni la profonde gratitude que je vous témoigne. Aucune dédicace  
ne pourra exprimer mes sincères sentiments, pour votre patience  
illimitée, votre encouragement continu, votre grand amour, votre aide en  
témoignage de mon profond amour et respect pour vos grands sacrifices.*

*Vous serez toujours le modèle*

*Papa, dans ta détermination, ta force et ton honnêteté*

*Maman, dans ta bonté, ta tendresse, ta patience et ton dévouement pour  
nous*

*Vous m'avez supporté sans cesse et sans jamais vous plaindre*

*Vous m'avez appris l'honnêteté et le sens de la responsabilité*

*Vos prières m'ont été d'un grand soutien au cours de ce long parcours*

*Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez  
depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagnera  
toujours.*

*Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le  
fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai  
jamais assez.*

*Puisse Dieu, le très haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie.*

*Je vous aime papa et maman.*

*A mes chers frères : Mohammed et Mehdi el Azzouzi*

*Vous savez que l'affection et l'amour fraternel que je vous porte sont sans limites. Vous étiez pour moi un père, frère et ami. Je vous dédie ce travail en témoignage de l'amour et des liens de sang qui nous unissent. Puissions-nous rester unis dans la tendresse et fidèles à l'éducation que nous avons reçue.*

*A mes très chères sœurs : Zineb et Oumaima el Azzouzi*

*Vous m'avez toujours soutenue et rassurée par vos encouragements, votre gentillesse et votre sens de l'humour. J'espère avoir répondu aux espoirs que vous avez fondés en moi et je vous rends hommage par ce modeste travail en guise de ma reconnaissance éternelle pour votre précieuse aide durant mon enfance et même à l'âge adulte.*

*Je vous admire et vous aime... En témoignage de mon affection fraternelle, de ma profonde tendresse, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant, vous protège et vous garde.*

*A ma chère cousine Dr Hanane Benhassoune*

*Ma conseillère, et amie fidèle, qui m'a assistée dans les moments difficiles et m'a pris doucement par la main pour traverser ensemble les épreuves pénibles de la vie....*

*Tes sacrifices, ton soutien moral et matériel, ta gentillesse, ton profond attachement m'ont permis de réussir mes études. Sans ton aide, tes conseils et tes encouragements ce travail n'aurait vu le jour. Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.*

*A ma très chère amie, Hafida Hanad*

*Une autre sœur que la vie a oublié de me donner. Ta bonté, ton grand-cœur et ton immense tendresse sont exemplaires. Ensemble et pendant 8 ans d'études, nous avons traversé tellement de choses que les mots ne sauraient l'exprimer.*

*Tu étais toujours présente lors de la réalisation de ce travail, et tu m'as appris tant de choses que je garderais à jamais. Et je ne te remercierai jamais assez pour ce précieux soutien et ce partage indéfini de ton savoir-faire.*

*Je te souhaite tout le bonheur et la réussite que tu mérites, et que notre amitié dure à tout jamais.*

*Je te dédie ce travail, et j'espère qu'il transmettra mes sincères sentiments de reconnaissance et d'amour profond.*

*Je t'aime.*

*À toute ma famille*

*Nous avons partagé des joies et survécu des malheurs ensemble, ce qui ne fait que renforcer davantage nos liens.*

*Je prie que Dieu nous préserve.*

*A mon très chère amie : Labsiri Houda*

*Merci pour ton amour, ton amitié. Tu étais toujours là pour me soutenir, m'aider et m'écouter.*

*Merci pour les bons moments qu'on a passés ensemble, de votre soutien et de votre serviabilité.*

*Que Dieu te protège et te procure joie et bonheur et que notre amitié reste à jamais*

*A mes très chères amies*

*Kaoutar Danaoui, Oumaima elkoudssi, Lamiaa Elabbadi, Nouhaïla*

*Kissa et Khadija Danaoui*

*A toutes les heures qu'on a passées ensemble, à nos moments de fous rires, nos petits secrets et clins d'œil, En témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs qu'on a accumulés, je vous dédie ce travail et Je souhaite que nous puissions rester unies dans la tendresse et la fidélité et j'implore*

*Dieu qu'il vous apporte bonheur et réussite*

*A mes binômes Bouchra Elbrichi et Khaoula Elalaoui*

*Votre amitié a doublé mes joies et a réduit mes peines. Ce lien si spécial que nous avons tissé au fil du temps est éternellement incassable.*

*vosre présence à mes côtés pimente ma vie, vous m'avez su me comprendre, me calmer et me reconforter. Je vous dédie ce travail en vous souhaitant de longues vies bien prospères*

*A mes chères amies et camarades de guerre*

*Salma Elabboudi, Khaoula Eddabi, Kenza Elbazi, Khalil Elbaz*

*On m'a toujours dit que nos camarades de médecine deviennent une seconde famille à force de gardes et d'innombrables heures de travail. Je confirme aujourd'hui cette rumeur : vous êtes ma seconde famille et je pense que ce lien sera éternel (eh oui la souffrance rapproche !) Je vous remercie pour tout ce que vous m'avez apporté et vous souhaite le meilleur dans la vie. Avec tout mon respect et toute mon affection.*

*A tous mes collègues, confrères et enseignants de la faculté de médecine de Marrakech*

*A tous les médecins dignes de ce nom*

*Aucune dédicace ne saurait exprimer le respect que je vous apporte de même que ma reconnaissance pour tous les sacrifices consentis pour ma formation, mon instruction et mon bien être. Puisse Dieu tout puissant vous procurer santé, bonheur et longue vie.*

*A tous ceux qui sont chers et que j'ai omis de les citer*

*Je vous dédie ce travail modeste.....*



*REMERCIEMENTS*



*A notre cher maître et rapporteur de thèse :*

*Professeur ADMOU Brahim,*

*Professeur d'enseignement supérieur d'immunologie à la FMPPM*  
*Chef de service d'immunologie au CHU Mohamed VI de Marrakech.*

*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 conférée en me confiant ce sujet. Ce fut pour nous un honneur et un grand plaisir d'avoir préparé notre thèse 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, chère Maître, de recevoir nos remerciements renouvelés ainsi que l'assurance de notre profonde gratitude*

*A notre maître et président du jury de thèse:*

*Professeur Zouhair Saïd,*

*Professeur d'enseignement supérieur en microbiologie virologie à la  
FMPPM Chef de service de microbiologie virologie à l'hôpital militaire  
Avicenne Marrakech*

*Nous sommes très sensibles au grand honneur que vous nous faites en  
acceptant avec bienveillance de présider le jury de notre thèse.*

*Nous avons eu le privilège d'être un de vos élèves. Nous avons toujours  
admiré la simplicité, la facilité de votre abord et largement bénéficié de  
l'étendue de votre savoir et de vos hauts talents pédagogiques. Vos hautes  
qualités humaines et professionnelles ainsi que votre sérieux ont toujours  
suscité notre profond respect.*

*Veillez trouver dans ce travail, les marques de notre profonde gratitude  
et l'expression d'une infinie reconnaissance.*

A NOTRE MAITRE ET JUGE DE THESE :

Professeur Latifa Adarmouch

Professeur agrégée au Service de recherche clinique et de traitement de  
l'information médicale

Département de Santé Publique, Médecine Communautaire et  
Epidémiologie

*Vous avez accepté très spontanément de faire partie de notre jury. Nous vous remercions de votre enseignement et de l'intérêt que vous avez porté à ce travail.*

*Je vous remercie pour votre aide, votre grande patience, votre disponibilité et lors de la réalisation de ce travail.*

*Veillez trouver ici, Professeur, l'expression de notre profond respect.*

A NOTRE MAITRE ET JUGE DE THESE :

Professeur Mustapha Ait ameur

Professeur agrégée en Hématologie à l'hôpital Avicenne militaire de  
Marrakech

*Nous tenons à vous exprimer nos plus sincères remerciements pour avoir accepté de siéger auprès de ce noble jury. Votre présence nous honore.*

*Veillez trouver ici, professeur, l'expression de notre profond respect.*

A NOTRE MAÎTRE ET JUGE DE THÈSE :

Professeur Oubaha Sofia

Professeur agrégée en gastro-entérologie à la FMPM

Service de gastro-entérologie au CHU Mohamed VI de Marrakech

*Nous vous remercions d'avoir répondu à notre souhait de vous voir siéger parmi nos membres du jury. En acceptant d'évaluer notre travail, vous nous accordez un très grand honneur. Veuillez trouver ici, cher Maître, l'assurance de mes sentiments respectueux et dévoués.*

A Professeur Majda sebbani

Professeur assistant au Service de recherche clinique et de traitement de

l'information médicale

Département de Santé Publique, Médecine Communautaire et

Epidémiologie

*Je vous remercie de m'avoir aidé dans la réalisation d'analyse statistique de cette étude. Votre disponibilité et votre professionnalisme m'ont aidé énormément.*

*Je vous remercie pour votre aide, votre disponibilité, votre gentillesse et votre bienveillance.*

*A tout le personnel du service d'immunologie du CHU*

*Mohamed VI de Marrakech*

*A Tous mes professeurs de la faculté de médecine et de pharmacie de*

*A TOUS CEUX QUI ONT AIDE DE LOIN OU DE PRES POUR*

*L'ELABORATION DE CE TRAVAIL*



*FIGURE & TABLEAU*



## Liste des figures et photos

- Figure 1** : Répartition des patients selon le sexe
- Figure 2** : Répartition des patients selon l'aspect de marquage cytoplasmique retrouvé à l'IFI
- Figure 3** : Répartition des patients selon l'aspect des anticorps antinucléaires à l'IFI
- Figure 4** : Résultats des différents auto-anticorps retrouvés chez nos patients
- Figure 5** : Résultats des spécificités anti-tissus retrouvées chez nos patients
- Figure 6** : Démarche diagnostique pour la recherche et l'identification des AAN
- Figure 7** : Correspond à un principe d'immunofluorescence indirecte et directe
- Figure 8** : Représentation schématique du principe des différents types d'ELISA
- Figure 9** : Représentation schématique de la technique d'immunodot
- Figure 10** : Résultat d'auto-anticorps identifiés par une technique d'immunoblot
- Figure 11** : Profil western objectivant la bande Mi2
- Photo 1** : Aspect IFI de type Homogène évocateur d'anticorps anti-ADNn
- Photo 2** : Aspect IFI des anticorps anti-histones
- Photo 3** : Aspect IFI d'anticorps anti-nucléosome
- Photo 4** : Aspect IFI d'anticorps anti-Sm/RNP
- Photo 5** : Aspect IFI des anticorps anti-Ro/SSA
- Photo 6** : Aspect IFI des anticorps anti-Ro/SSB
- Photo 7** : Aspect des anticorps anti-Scl70 à l'IFI
- Photo 8** : Profil western objectivant la bande Mi2
- Photo 9** : Aspect des auto-anticorps anti-gp210
- Photo 10** : Aspect des auto-anticorps anti-Sp100
- Photo 11** : Aspect de fluorescence nucléolaire
- Photo 12** : Aspect IFI des anticorps anti-PM/Scl
- Photo 13** : Aspect IFI des anticorps anti-Ku
- Photo 14** : Aspect IFI des anticorps anti-centromères
- Photo 15** : Aspect des anticorps anti-F-actine sur cellules Hep2
- Figure 16** : Aspect des anticorps anti-ribosome sur cellules Hep2
- Figure 17** : Anticorps anti-Jo1 sur cellules Hep-2
- Figure 18** : Anticorps anti-PL7 sur cellules Hep-2
- Figure 19** : Aspect des anticorps anti-SRP sur cellules Hep2
- Figure 20** : Aspect des anticorps antimitochondries M2 sur cellules HEp2
- Figure 21** : Aspect des autoanticorps anti-SLA
- Figure 22** : Aspect des anticorps anti-LC1 à l'IFI
- Figure 23** : Aspect des anticorps anti-KLM1 à l'IFI

## Liste des tableaux

<b>Tableau I</b>	: Répartition des patients de notre série selon les tranches d'âge
<b>Tableau II</b>	: Récapitulatif de l'ensemble des aspects de marquage nucléaire et cytoplasmique chez nos patients
<b>Tableau III</b>	: Répartition des spécificités antinucléaires chez les patients de notre série
<b>Tableau IV</b>	: Répartition des auto-anticorps anti-tissus
<b>Tableau V</b>	: Répartition des aspects retrouvés à l'IFI en fonction des étiologies suspectées
<b>Tableau VI</b>	: Répartition de spécificités anti-tissu en fonction des pathologies associées
<b>Tableau VII</b>	: Spécificités des AAN retrouvées selon les pathologies suspectées
<b>Tableau VIII</b>	: Répartition des spécificités anticorps antinucléaires et anti-tissus selon les aspects à l'IFI
<b>Tableau IX</b>	: Répartition des diagnostics retenus chez nos patients selon les étiologies suspectées
<b>Tableau X</b>	: Classification des maladies auto-immunes spécifiques et non spécifiques d'organe
<b>Tableau XI</b>	: Aspect des anticorps antinucléaires sur cellules Hep-2
<b>Tableau XII</b>	: Synthétique des différents aspects de fluorescence des anticorps antinucléaires sur cellules HEp2, avec leurs cibles antigéniques et pathologies associées
<b>Tableau XIII</b>	: Moyenne d'âge des patients selon les différentes séries
<b>Tableau XIV</b>	: Sex-ratio selon les différentes études
<b>Tableau XV</b>	: Fréquence de l'immunofluorescence cytoplasmique au cours de la recherche d'AAN par IFI selon les séries
<b>Tableau XVI</b>	: Les différents aspects de fluorescence cytoplasmique retrouvée selon les études
<b>Tableau XVII</b>	: Auto-anticorps associés à la cholangite biliaire primitive selon les différentes études
<b>Tableau XVIII</b>	: Auto-anticorps associés à l'hépatite auto-immune selon les différentes séries
<b>Tableau XIX</b>	: Anticorps spécifiques d'hépatopathies auto-immunes et AAN selon les études
<b>Tableau XX</b>	: Fréquence des autoanticorps associés au lupus érythémateux systémique selon les séries
<b>Tableau XXI</b>	: Fréquence des anticorps spécifiques ou associés aux myopathies inflammatoires selon les séries de la littérature
<b>Tableau XXII</b>	: Fréquence des anticorps anti-PMscl, anti-SSA et anti-SSB au cours de la sclérodermie selon les séries
<b>Tableau XXIII</b>	: Fréquence des anticorps anti-SSA et anti-SSB au cours du syndrome du Gougerot Sjögren selon les séries



*ABBREVIATIONS*



## Liste des abréviations

<b>AAN</b>	: Anticorps Antinucléaires
<b>ADN</b>	: Acide Désoxyribonucléique
<b>ADNn</b>	: Acide Désoxyribonucléique natif
<b>Ac</b>	: Anticorps
<b>ACA</b>	: Anticorps anti-Centromère
<b>ACR</b>	: American College of Rheumatology
<b>Ag</b>	: Antigène
<b>AAM</b>	: Anticorps anti-mitochondries
<b>ASMA</b>	: Anticorps anti-muscle lisse
<b>ARN</b>	: Acide Ribonucléique
<b>AUCD</b>	: Acide ursodésoxycholique
<b>CBP</b>	: Cholangite biliaire primitive
<b>CM</b>	: Connectivite mixte
<b>CNP-B</b>	: Anticorps Centromérique B
<b>DPM</b>	: Dermatopolymyosite
<b>ELISA</b>	: Enzyme linked immunosorbent assay
<b>F-actine</b>	: Filament d'actine
<b>FR</b>	: Facteur rhumatoïde
<b>GP210</b>	: Glycoprotéine 210
<b>GVH</b>	: Greffon contre l'hôte
<b>HAI</b>	: Hépatite auto-immune
<b>HVC</b>	: Hépatite virale c
<b>Hep2</b>	: human epithelial cell line type 2
<b>IFI</b>	: Immunofluorescence indirecte
<b>IgG</b>	: Immunoglobuline type G
<b>IP</b>	: Index du patient
<b>KLM1</b>	: Liver Kidney Microsomes

<b>LC1</b>	: Cytosol type 1
<b>LES</b>	: Lupus érythémateux systémique
<b>MCTD</b>	: Mixed Connective Tissue Disease
<b>NK</b>	: Natural killer
<b>PM</b>	: Polymyosite
<b>RNP</b>	: Ribonucléoprotéines
<b>SAPL</b>	: Syndrome des anti-phospholipides
<b>SLA</b>	: Soluble Liver Antigen
<b>Sm</b>	: Smith
<b>PANCA</b>	: anticorps anti-cytoplasmiques des neutrophiles
<b>SGS</b>	: Syndrome de Gougerot-Sjögren
<b>Sm</b>	: Smith



# *PLAN*



## INTRODUCTION \_\_\_\_\_

## PATIENTS ET MÉTHODES \_\_\_\_\_

- I. Méthodologie \_\_\_\_\_
  1. Type de l'étude \_\_\_\_\_
  2. Lieu \_\_\_\_\_
  3. Durée \_\_\_\_\_
  4. Population d'étude \_\_\_\_\_
- II. Paramètres étudiés \_\_\_\_\_
  1. Paramètres sociodémographiques \_\_\_\_\_
  2. Paramètres cliniques \_\_\_\_\_
  3. Paramètres immunologiques \_\_\_\_\_
- III. Analyse statistique \_\_\_\_\_
- IV. Aspects éthiques \_\_\_\_\_

## RÉSULTATS \_\_\_\_\_

- I. Données sociodémographiques \_\_\_\_\_
  1. Âge \_\_\_\_\_
  2. Sexe \_\_\_\_\_
  3. Répartition des patients selon les services cliniques \_\_\_\_\_
- II. Paramètres cliniques \_\_\_\_\_
  1. Circonstances motivant la demande du bilan immunologique \_\_\_\_\_
- III. Paramètres immunologiques \_\_\_\_\_
  1. Les aspects de marquage cytoplasmique \_\_\_\_\_
  2. Les aspects de marquage nucléaire \_\_\_\_\_
  3. Les spécificités des auto-anticorps retrouvés \_\_\_\_\_
  4. Spécificité des anticorps anti-tissus retrouvés \_\_\_\_\_
- IV. Auto-anticorps et données cliniques des patients \_\_\_\_\_
- V. Les aspects d'immunofluorescence retrouvés et pathologies suspectées \_\_\_\_\_
- VI. Auto-anticorps retrouvés et pathologies suspectées \_\_\_\_\_
  1. Anticorps anti-tissus et anticorps antinucléaires \_\_\_\_\_
- VII. Spécificités antinucléaires et anti-tissus selon les aspects à l'IFI : \_\_\_\_\_
- VIII. Diagnostic retenu en fonction du type d'anticorps retrouvé \_\_\_\_\_

## DISCUSSION \_\_\_\_\_

- I. Généralités \_\_\_\_\_
  1. Les anticorps antinucléaires \_\_\_\_\_
  2. Méthodes de détection des AAN \_\_\_\_\_
  3. Détection des anticorps antinucléaires \_\_\_\_\_
  4. Principaux aspects des anticorps antinucléaires et leur signification clinique \_\_\_\_\_
- II. Discussion de nos résultats \_\_\_\_\_
  1. Données sociodémographiques \_\_\_\_\_
  2. Circonstances motivant la demande du bilan immunologique \_\_\_\_\_
  3. Paramètres immunologiques \_\_\_\_\_

4. Auto-anticorps et données cliniques des patients \_\_\_\_\_

5. Spécificités anticorps antinucléaires et anti-tissu et aspects à l'IFI

III. Forces et limites de l'étude \_\_\_\_\_

**RECOMMANDATIONS** \_\_\_\_\_

**CONCLUSION** \_\_\_\_\_

**RÉSUMÉS** \_\_\_\_\_

**ANNEXES** \_\_\_\_\_

**BIBLIOGRAPHIE** \_\_\_\_\_



*INTRODUCTION*



Les anticorps antinucléaires (AAN) correspondent à des auto-anticorps dirigés contre des protéines participant à la structure et à la fonction du noyau cellulaire (ADN, histones, centromères, antigènes nucléaires solubles, et autres) [1,2]. Ils sont le produit de clones lymphocytaires B auto-réactifs dont l'activation et la différenciation sont la conséquence d'un processus auto-immun multifactoriel [1]. Ils sont considérés comme des biomarqueurs importants pour le diagnostic de maladies auto-immunes (MAI) systémiques. Ils peuvent également être recherchés au cours de certaines MAI spécifiques d'organe, en particulier les hépatites auto-immunes [1].

Au cours des MAI systémiques, comme le LES, la sclérodermie systémique, le syndrome de Gougerot-Sjögren, la connectivite mixte, et la dermatopolymyosite, les cibles antigéniques de ces auto-Ac sont généralement localisées dans des complexes supramoléculaires comme le nucléosome, le splicéosome, la particule ribonucléoprotéique Ro, le ribosome et autres [2]. Ils peuvent alors être subdivisés en deux groupes :

- Les Ac non solubles dirigés contre la chromatine et ses constituants : Ac anti-ADN natif (ADNn) et anti ADN simple brin, Ac anti-ARN, anti-histone.
- Les Ac anti-antigènes nucléaires solubles : Ac Anti-Sm, anti-U1RNP, Anti-SSA/SSB, ACA [3].

La mise en évidence des AAN consiste en une étape de dépistage initial basé quasi-exclusivement sur l'immunofluorescence indirecte qui permet de catégoriser plusieurs aspects de fluorescence ayant pour la majorité d'entre eux une valeur d'orientation importante vers une ou plusieurs spécificités d'auto-anticorps. Cependant, on observe souvent un marquage de type cytoplasmique seul ou associé au marquage nucléaire. Dès lors, la découverte de la fluorescence cytoplasmique au cours de la recherche d'AAN doit susciter plusieurs interrogations quant à la possibilité d'identifier une spécificité auto-Ac associée à ce type de marquage et surtout à sa valeur diagnostique.

En effet, plusieurs auteurs proposent de revoir même la nomenclature des AAN décrits à l'IFI en élargissant leur définition pour inclure désormais la fluorescence cytoplasmique et celle de l'appareil mitotique, et en adoptant l'appellation anticorps anti-cellules au lieu d'anticorps antinucléaires qui semble restrictive [4].

L'objectif de l'étude était de décrire les aspects de fluorescence nucléaire et cytoplasmique au cours de la recherche d'AAN par technique d'IFI et de déterminer la signification clinique des spécificités des auto-anticorps associées aux aspects de marquage cytoplasmique isolés ou associés aux AAN.



*PATIENTS*  
&  
*MÉTHODES*



## **I. Méthodologie**

### **1. Type de l'étude**

Il s'agit d'une étude descriptive transversale, portant sur des patients ayant bénéficié de la recherche d'AAN par immunofluorescence indirecte avec un marquage cytoplasmique positif associé ou non au marquage nucléaire.

### **2. Lieu**

Les patients de l'étude ont été recrutés à partir du laboratoire d'immunologie du CHU de Marrakech.

### **3. Durée**

L'étude s'est déroulée sur 2 années, et a inclus 128 patients colligés durant une période de 5 ans, de janvier 2013 à décembre 2018.

### **4. Population d'étude**

L'étude a concerné une population adulte et pédiatrique répondant aux critères suivants :

#### **Critères d'inclusion**

- Patients ayant bénéficié de la recherche d'anticorps antinucléaire par IFI.
- Patients dont les AAN étaient positifs avec une fluorescence cytoplasmique positive associée ou non à une fluorescence nucléaire.

### **Critères d'exclusion**

- Patients n'ayant pas bénéficié de la recherche d'AAN par IFI.
- Patients dont la recherche d'AAN était positive sans la présence de marquage cytoplasmique.

## **II. Paramètres étudiés**

Les paramètres étudiés ont été recueillis à l'aide d'une fiche d'exploitation remplie à partir des données des registres du laboratoire d'immunologie.

### **1. Paramètres sociodémographiques**

- Sexe
- Age
- Numéro de laboratoire
- IP (Identifiant du Patient)
- Service demandeur

### **2. Paramètres cliniques**

Ont été collectés à travers les données cliniques des patients permettant de préciser :

- La suspicion diagnostique initiale ;
- Le diagnostic retenu sur la base de l'ensemble des investigations clinico-biologique.

### **3. Paramètres immunologiques**

L'étude des paramètres immunologiques a porté sur la recherche des auto-anticorps suivants :

- Anticorps antinucléaires : aspect et titre, recherchés par technique d'IFI (lame Kallestad, Bio-Rad, avec un seuil de détection de  $1/160 > 18$  ans et de  $1/80 \leq 18$  ans.

- Anticorps anti-antigènes nucléaires solubles : comprenant les anticorps anti-centromères, anti-topoisomérase I (anti-Scl70), anti-RNP, anti-PM-Scl, anti-SSA, anti-SSB, anti-Jo1, anti-nucléosome, anti-histone, anti-Sm/RNP, anti-SRP, anti-PL7, anti-PL12, anti-Ribosome-P. Leur recherche a été effectuée par méthode immunoenzymatique de type IMMUNODOT (Aesku, Germany) ou de type ELISA (ENA profile, Biorad).
- Anticorps anti-DNA natifs ont été recherchés par technique immunoenzymatique de type ELISA (DNA natif, AESKU, seuil : 16 UI/ml) ou et/ou par immunofluorescence indirecte sur substrat de Crithidia Luciliae (Kallstad, Biorad, seuil : 1/5).
- Anticorps anti-M2, anti-KLM1, antiLCI, anti-SLA, anti-Factin, anti-GP210, anti-SP100, ont été recherchés par technique immuno dot (Liver10, Bludiver, Aesku,).

### **III. Analyse statistique**

La saisie des données cliniques, paracliniques et immunologiques a été faite sur une base de données Excel et l'analyse statistique descriptive (pourcentages, moyennes et ratio), concernant les différentes variables a été réalisée moyennant le même tableau Excel.

### **IV. Aspects éthiques**

Le recueil et l'exploitation des données sociodémographiques et cliniques des patients ont été menés selon les règles de l'éthique médicale concernant l'anonymat des patients et la confidentialité de leurs données.



*RÉSULTATS*



## I. Données sociodémographiques

### 1. Âge :

#### Moyenne d'âge

La moyenne d'âge des patients au moment du diagnostic était de  $52,50 \pm 16.12$  avec des âges extrêmes allant de 7 ans à 83 ans.

#### Répartition selon la tranche d'âge

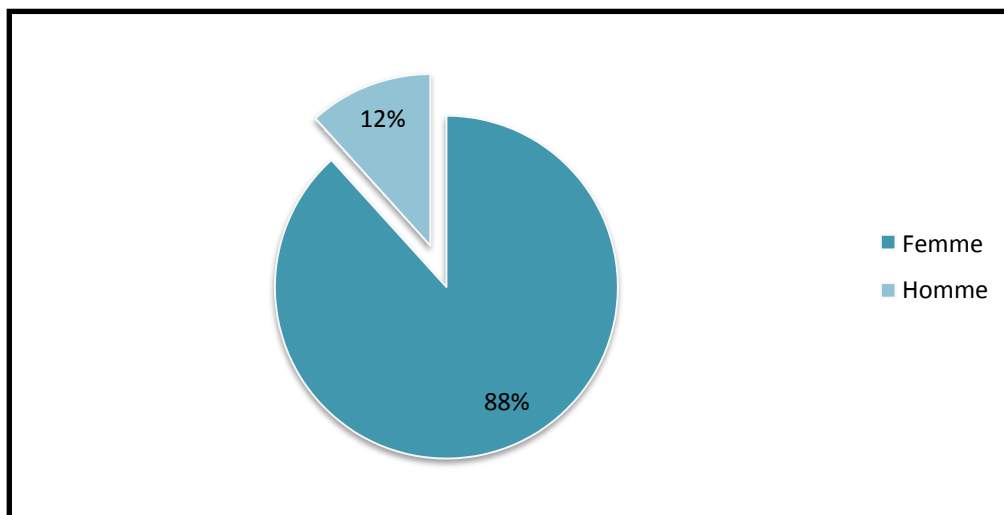
Dans notre série, 31.5% des patients étaient dans la tranche d'âge comprise entre 50 et 59 ans et 17.2% d'entre eux étaient dans celle comprise entre 60 et 69 ans (Tableau I-et Figure-1).

**Tableau I: Répartition des patients de notre série selon les tranches d'âge**

Tranche d'âge	Nombre de cas	Pourcentage %
<20	8	6.25
20-29	8	6.25
30-39	17	13.6
40-49	19	14.8
50-59	40	31.25
60-69	22	17.18
>70	14	10.93
Total	128	100

### 2. Sexe :

Dans notre étude, 115 cas (88.3%) étaient de sexe féminin alors que 13 cas seulement étaient de sexe masculin (11.7%), le sexe ratio F/H était de 8.8 (figure-2).



**Figure 1 : Répartition des patients selon le sexe**

### **3. Répartition des patients selon les services cliniques :**

Les prélèvements des patients de notre série provenaient majoritairement des services de gastroentérologie (43 cas, 33.6%), et de médecine interne (41 cas, 32%), et dans 7.8% des cas étaient à titre externe (tableau-II)

**Tableau II: Répartition des patients de notre série selon les services cliniques**

Service	Nombre de cas	Pourcentage %
Gastroentérologie	43	33,60
Médecine interne	41	32
Rhumatologie	12	9,40
Externe	10	7,80
Pédiatrie	6	4,70
Cardiologie	2	1,60
Neurologie	2	1,60
Néphrologie	2	1,60
Personnel de santé	2	1,60
Pneumologie	1	0,80
Réanimation	1	0,80
Endocrinologie	1	0,80
Laboratoire d'urgence	1	0,80
Total	128	100

## **II. Paramètres cliniques**

### **1. Circonstances motivant la demande du bilan immunologique :**

Les demandes de recherche d'anticorps antinucléaires étaient motivées par les circonstances cliniques suivantes :

- Suspicion de cholangite biliaire primitive dans 45.3% des cas (n=58) ;
- Suspicion d'hépatite auto-immune dans 5.5% des cas (n=7).
- Suspicion d'hépatite auto-immune et/ou de cholangite biliaire primitive dans 14.1% des cas (n=18).
- Suspicion de Polymyosite dans 10.2% des cas (n=13).
- Suspicion de lupus érythémateux systémique dans 19.5% des cas (n=25).
- Suspicion de Gougerot Sjögren dans 3.1% des cas (n=4).
- Suspicion de sclérodermie dans 2.3% des cas (n=3).

## **III. Paramètres immunologiques :**

La recherche des AAN par immunofluorescence indirecte, réalisée chez tous nos patients, a objectivé un marquage de type nucléaire et cytoplasmique, voire cytoplasmique seul. Les différents aspects d'immunofluorescence observés sont rapportés dans les tableaux et figures ci-dessous.

### **1. Les aspects de marquage cytoplasmique :**

Le marquage cytoplasmique était présent chez tous nos patients dont l'aspect moucheté diffus dans le cytoplasme (non spécifique) était dominant avec 104 cas (81.4%), suivi de l'aspect granulo-filamenteux avec 14 cas (10.93%), et de l'aspect filamenteux avec 9 cas (7.03%), puis l'aspect granulaire avec un seul cas. (Figure-2)

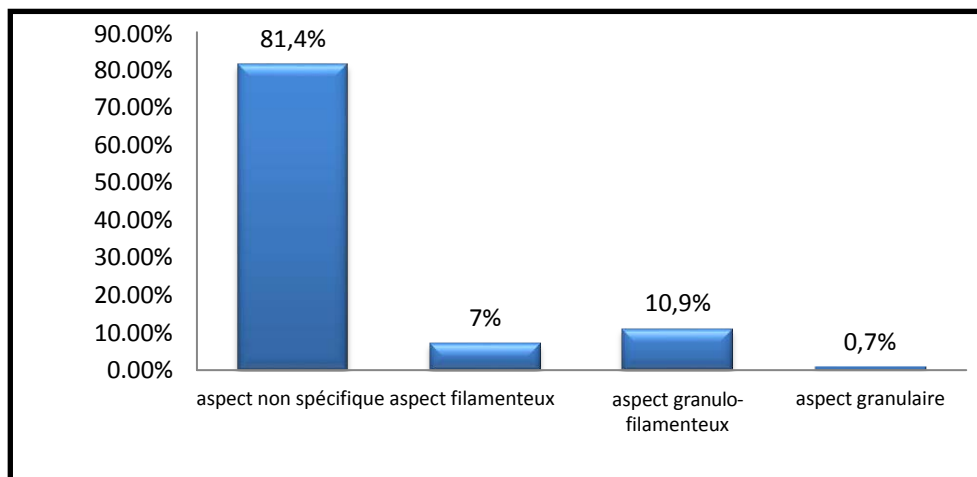


Figure 2 : Répartition des patients selon l'aspect de marquage cytoplasmique retrouvé à l'IFI

## 2. Les aspects de marquage nucléaire :

Dans notre étude, les marquages nucléaires les plus rencontrés étaient de type :

- Moucheté dans 15,6% des cas (n=20) ;
- Homogène dans 2,3% des cas (n=3) ;
- Et mixte homogène-moucheté ou autre dans 25,78% des cas (n=33) (figure-3).

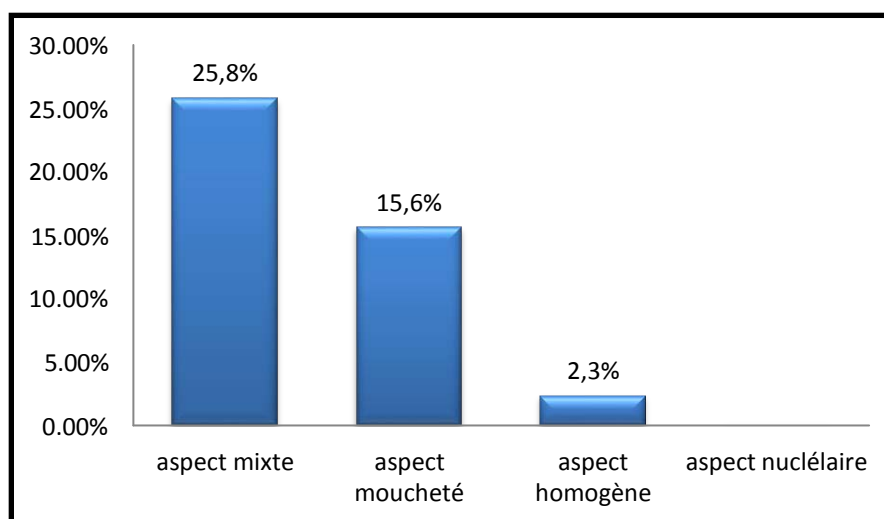


Figure 3 : Répartition des patients selon l'aspect des anticorps antinucléaires à l'IFI

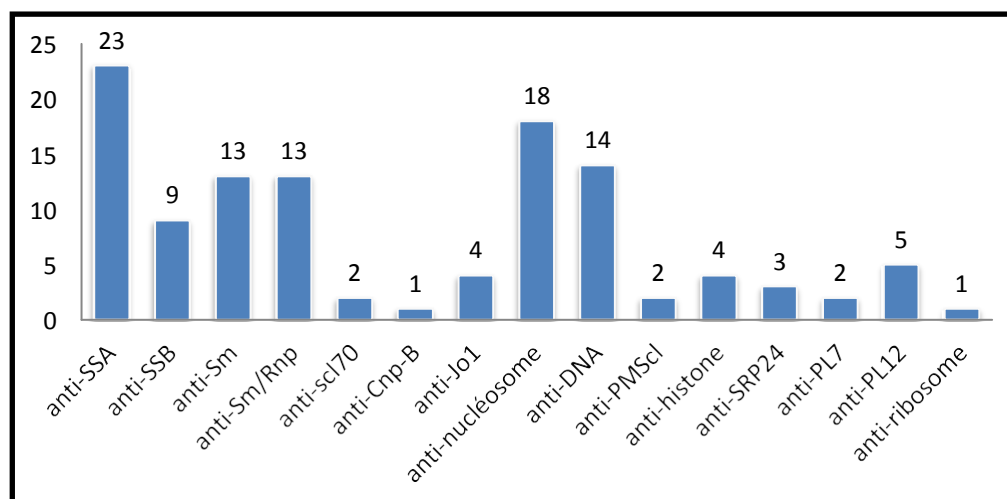
Le marquage cytoplasmique seul a été démontré chez 73 de nos patients soit 57%, tandis que chez les 55 cas restants soit 43% ce dernier s'associe à un marquage nucléaire (Le tableau III).

**Le tableau III : Récapitulatif de l'ensemble des aspects de marquage nucléaire et cytoplasmique chez nos patients**

Type de marquage	Type d'aspect		Nombre	Pourcentage %
Marquage cytoplasmique	Aspect filamenteux		7	5.46
	Aspect granulo-filamenteux		7	5.46
	Aspect granulaire		0	0
	Aspect non spécifique		59	46.09
Marquage nucléaire associé au marquage cytoplasmique	Aspect non spécifique	Homogène	2	1.56
		Moucheté	15	11.71
		Mixte	28	21.8
	Aspect mixte	Granulo-filamenteux	5	3.9
	Aspect moucheté	Filamenteux	2	1.56
		Granulo-filamenteux	1	0.7
		Granulaire	1	0.7
Total			128	100

### 3. Spécificité des auto-anticorps retrouvés

Les autoanticorps retrouvés chez nos patients étaient dominés par les Ac anti-SSA (23 cas), les anti-nucléosome (18 cas), les anti-DNA (14 cas), les anti-Sm (13 cas), les anti-Sm/Rnp (13 cas). Le résultat de l'ensemble des auto-Ac retrouvés est rapporté dans la figure et tableau ci-dessous.



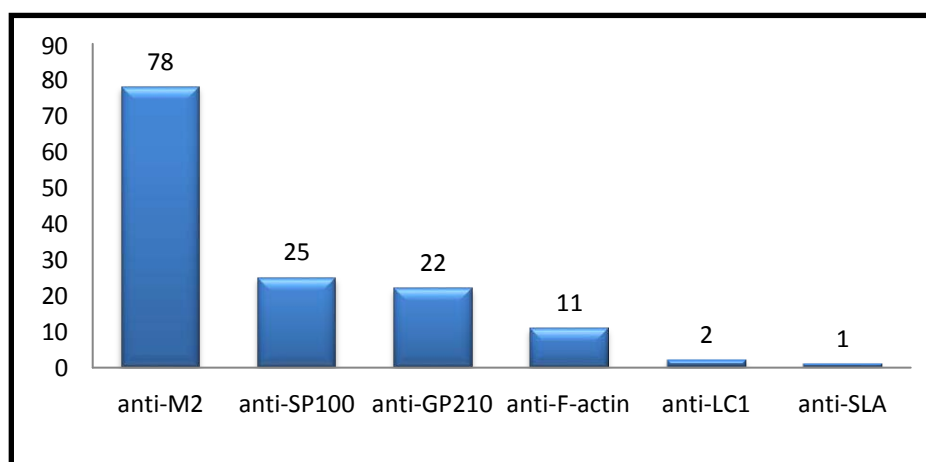
**Figure 4 : Résultats des différents autoanticorps retrouvés chez nos patients**

**Tableau IV: Répartition des spécificités antinucléaires chez les patients de notre série**

Anticorps antinucléaires	Effectif	Pourcentage%
Anti-SSA	23	17.96
Anti-nucléosome	18	14.1
Anti-DNA	14	10.93
Anti-Sm	13	10.15
Anti-Sm/Rnp	13	10.15
Anti-SSB	9	7.03
Anti-PL12	5	3.9
Anti-Jo1	4	3.1
Anti-histone	4	3.1
Anti-SRP	3	1.3
Anti-Scl70	2	1.5
Anti-PL7	2	1.5
Anti-PMScI	2	1.5
Anti-CNP-B	1	0.2
Anti-Ribosome	1	0.2

#### 4. Spécificité des anticorps anti-tissus retrouvés

Les anticorps anti-tissus retrouvés chez nos patients étaient dominés par les Ac anti-M2 (78 cas), les anti-SP100 (25 cas), les anti-GP210 (22 cas), les Anti-F-actin (11 cas), les anti-LC1 (2 cas), et les anti-SLA (1 cas). Le résultat de l'ensemble des auto-Ac est rapporté dans la figure et tableau ci-dessous.



**Figure 5 : Résultats des spécificités anti-tissus retrouvés chez nos patients**

**Tableau V : Répartition des autoanticorps anti-tissus**

Anti-tissus	Effectif	Pourcentage%
Anti-M2	78	60.9
Anti-SP100	25	19.5
Anti-GP210	22	17.1
Anti-F-actine	11	8.5
Anti-LC1	2	1.5
Anti-SLA	1	0.7

#### **IV. Auto-anticorps et données cliniques des patients**

L'analyse des données cliniques des 128 patients de notre série a montré :

- 79 cas de cholangite biliaire primitive
- 6 cas d'hépatite auto-immune
- 7 cas d'overlap syndrome (cholangite biliaire associée à l'hépatite auto-immune)
- 1 cas de cholangite biliaire associée à une polymyosite
- 10 cas de polymyosite
- 20 cas de lupus érythémateux systémique
- 4 cas de syndrome de Gougerot Sjögren
- 1 cas de sclérodermie.

#### **V. Les aspects d'immunofluorescence retrouvés et pathologies suspectées**

Confrontés aux différentes pathologies suspectées et mentionnées ci-dessus, les aspects de marquage cytoplasmiques des AAN étaient prédominants dans les cas d'hépatopathies auto-immunes avec un total de 83 cas, 58 étaient associés à la CBP, 18 cas étaient associés au syndrome de chevauchement CBP-HAI et 7 cas étaient associés à l'HAI. Nous avons également noté la

présence de marquage cytoplasmique au cours du LES, de la PM, du SGS et de la sclérodemie, avec 24, 13, 4 et 3 cas respectivement (tableau-VI).

Tableau VI : Répartition des aspects retrouvés à l'IFI en fonction de différentes étiologies suspectées

Pathologie suspectée	Aspects des AAN à l'immunofluorescence indirecte													
	Aspect nucléaire						Aspect cytoplasmique							
	Moucheté		Homogène		Mixte		Filamenteux		Granulofilamenteux		Granulaire		Non spécifique	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Suspicion CBP (n=58)	4	6.9	1	1.7	13	22.4	4	6.9	8	13.8	-	-	46	79.3
Suspicion de HAI (n=7)	1	14.2	-	-	1	14.2	1	14.2	1	14.2	-	-	5	71.4
Suspicion de HAI et/ou CBP (n=18)	7	38.8	-	-	3	16.6	3	16.6	1	5.55	-	-	14	77.7
Suspicion de LES (n=25)	4	16	2	8	9	36	-	-	1	4	1	4	22	88
Suspicion de PM (n=13)	2	15.4	-	-	6	46.2	-	-	1	7.7	-	-	12	92.3
Suspicion de sclérodémie (n=3)	-	-	-	-	1	33.3	1	33.3	-	-	-	-	2	50
Suspicion de Gougerot Sjögren (n=4)	2	50	-	-	-	-	-	-	1	25	-	-	3	75

## **VI. Auto-anticorps retrouvés et pathologies suspectées**

### **1. Anticorps anti-tissus et anticorps antinucléaires**

L'analyse des profils d'auto-Ac selon les différentes circonstances cliniques a montré que :

- La CBP était associée à l'Ac anti-M2 dans 91,3% des cas (n=53), et aux Ac anti-SP100, anti-GP210 et anti-F-actine dans 18 cas, 13 cas et un cas respectivement.
- L'HAI était associée à la présence d'Ac anti-F-actine dans 5 cas, dont 3 cas coexistaient avec les Ac anti-M2 et un seul cas avec les Anti-GP210 et les Anti-SP100.
- Le LES était associée aux Ac anti-nucléosome (15 cas), aux anti-DNA (12 cas), aux anti-histones (3 cas), aux anti-Sm (12 cas), et aux anti-Sm/Rnp (13 cas).
- Le tableau de dermatomyosite ou polymyosite étaient associé aux anticorps anti-PL12 (4 cas), aux anti-Jo1 (4 cas), aux anti-SRP (3 cas) et aux anti-PMScl (2 cas).
- La sclérodermie était associée à la spécificité anti-Scl70 dans 4 cas et le syndrome de Gougerot-Sjögren était associé aux Ac anti-SSA et aux anti-SSB dans 3 cas pour chacun (Tableau-VII et Tableau- VIII).

**Tableau VII : Répartition de spécificités anti-tissus en fonction des pathologies associées**

Pathologie suspectée	Spécificités anti-tissus											
	Anti-M2		Anti-SP100		Anti-GP210		Anti-F-actine		Anti-LC1		Anti-SLA	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Suspicion CBP (n=58)	53	91.3	18	31.03	13	22.4	1	1.72	-	-	-	-
Suspicion de HAI (n=7)	3	42.8	1	14.2	1	14.2	5	71.4	-	-	1	14.2
Suspicion de HAI et/ou CBP (n=18)	15	83.3	6	33.3	7	38.8	2	11.1	1	5.5	-	-
Suspicion de LES (n=25)	4	16.4	-	-	-	-	-	-	1	4.2	-	-
Suspicion de PM (n=13)	2	15.4	-	-	1	7.7	1	7.7	-	-	-	-
Suspicion de sclérodermie (n=3)	-	-	-	-	-	-	1	33.3	-	-	-	-
Suspicion de Gougerot Sjögren (n=4)	1	25	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

**Tableau VIII : Spécificités des AAN retrouvés selon les pathologies suspectées**

Pathologie suspectée	Autoanticorps recherchés																												
	Anti-PL7		Anti-PL12		Anti-SRP		Anti-DNA		Anti-nucléosome		Anti-histone		Anti-PMScl		Anti-Jo1		Anti-Scl70		Anti-CNP-B		Anti-Sm		Anti-Sm/Rnp		Anti-SSA		Anti-SSB		
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	N
CBP (n=58)	-	-	-	-	-	-	1	1.7	1	1.7	1	1.7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2	3.4	1	1.7
HAI (n=7)	-	-	1	14.3	-	-	1	14.3	1	14.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HAI et/ou CBP (n=18)	-	-	1	5.5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	5.5	1	5.5	
LES (n=25)	1	4.2	-	-	-	-	12	45.8	15	38.5	3	8.3	-	-	-	-	1	4.2	1	4.2	12	50	13	54.2	11	45.8	3	12.5	
DPM (n=13)	1	7.7	4	30	3	23.1	-	-	1	7.7	-	-	2	15.4	4	30.8	-	-	-	-	1	7.7	1	7.7	5	38.5	1	7.7	
Sclérodémie (n=3)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	33.3	-	-	-	-	-	-	1	33.3	1	33.3	
Gougerot Sjögren (n=4)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3	75	3	75	

## VII. Spécificités d'anticorps antinucléaires et anti-tissus selon les aspects à l'IFI :

La présence des anticorps anti-SSA, anti-SSB, anti-Sm, anti-Sm/Rnp et anti-Jo1 était caractérisée par un aspect nucléaire moucheté chez 10 patients de notre série, lesquels avaient également un aspect cytoplasmique associé.

Les Ac anti-nucléosomes, anti-DNA et anti-histones étaient caractérisés par un aspect nucléaire mixte de type homogène-moucheté chez 20 patients, et étaient également associés à un marquage cytoplasmique.

Une fluorescence cytoplasmique non spécifique a également été retrouvée chez 8 patients ayant des Ac anti-PL7, anti-PL12 et anti-SRP, associée à un aspect nucléaire moucheté.

Les Ac anti-M2 étaient caractérisés par une fluorescence cytoplasmique, présente dans 37 cas, associée à un aspect nucléaire mixte chez 24 d'entre eux.

L'Ac anti-F-actine était associé à un aspect cytoplasmique non spécifique chez 5 cas, dont un cas avait un marquage cytoplasmique de type filamenteux. Trois de ces patients avaient un aspect nucléaire moucheté associé.

La présence des anticorps anti-tissus était également observée chez nos patients :

-l'anti-LC1 et l'anti-SLA sont associés à un aspect nucléaire moucheté et à un aspect cytoplasmique non spécifique (2 cas).

-l'anti-GP210 et l'anti-SP100 sont associés à un aspect nucléaire mixte et à un aspect cytoplasmique non spécifique ainsi qu'à un aspect cytoplasmique filamenteux (23 cas) (Tableau IX)

**Tableau IX : Répartition des spécificités anticorps antinucléaires et anti-tissus selon les aspects à l'IFI**

	Marquages cytoplasmiques						Marquage cytoplasmique associé au marquage nucléaire													
	Filamenteux		Granulofilamenteux		Non spécifique		Aspect cytoplasmique non spécifique						Granulofilamenteux		Filamenteux		Granulaire		Aspect cytoplasmique Granulofilamenteux	
							Aspect nucléaire homogène		Aspect nucléaire moucheté		Aspect nucléaire mixte		Aspect nucléaire moucheté						Aspect nucléaire mixte	
	N=7	P	N=7	P	N=59	P	N=2	P	N=14	P	N=29	P	N=1	P	N=2	P	N=1	P	N=5	P
Anti-SSA	-	-	-	-	8	13.5	1	50	3	21.4	9	31	1	100	-	-	-	-	1	20
Anti-SSB	-	-	-	-	3	5.08	-	-	2	14.2	4	13.8	1	100	-	-	-	-	-	-
Anti-Sm	-	-	-	-	5	8.47	-	-	1	7	5	17.2	-	-	-	-	1	100	-	-
Anti-Sm/Rnp	-	-	-	-	5	8.47	-	-	1	-	6	20.7	-	-	-	-	1	100	-	-
Anti-Scl70	1	14	-	-	1	1.69	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Anti-Cnp-B	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	3.4	-	-	-	-	-	-	-	-
Anti-Jo1	-	-	-	-	2	3.38	-	-	1	7.14	1	3.4	-	-	-	-	-	-	-	-
Anti-nucléosome	-	-	-	-	8	13.5	-	-	-	-	9	31	-	-	-	-	-	-	1	20
Anti-DNA	-	-	-	-	7	11.86	-	-	-	-	6	20.7	-	-	-	-	-	-	1	20
Anti-histone	-	-	-	-	2	3.38	-	-	-	-	2	20.7	-	-	-	-	-	-	1	20
Anti-PMScI	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	3.4	-	-	-	-	-	-	1	20
Anti-SRP24	-	-	-	-	3	5.08	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Anti-PL7	-	-	-	-	-	-	-	-	1	7.1	1	3.4	-	-	-	-	-	-	-	-
Anti-PL12	-	-	-	-	2	3.1	-	-	-	-	3	10.3	-	-	-	-	-	-	-	-
Anti-M2	6	85.7	7	100	37	62.7	2	100	8	57.1	12	41.4	-	-	2	100	-	-	4	80
Anti-LC1	-	-	-	-	-	-	1	50	1	7.1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Anti-SLA	-	-	-	-	1	1.69	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Anti-F-actine	-	-	-	-	5	8.47	-	-	3	21.4	-	-	-	-	1	50	-	-	2	40
Anti-GP210	1	14.2	-	-	12	20.33	-	-	6	42.8	-	-	-	-	2	100	-	-	1	20
Anti-SP100	2	28.5	1	14	11	18.64	-	-	3	-	6	20.7	-	-	1	50	-	-	1	20

## **VIII. Diagnostic retenu en fonction du type d'anticorps retrouvé :**

Nous avons colligé un total de 128 patients dont les résultats d'analyse ont montré : 79 cas de cholangite biliaire primitive, 6 cas d'hépatite auto-immune, 20 cas de lupus érythémateux systémique et 10 cas de polymyosite. Le reste des cas est réparti comme suit :

- 4 cas de syndrome de Gougerot Sjögren
- 1 cas de sclérodemie.
- 7 cas présentent une cholangite biliaire associée à une hépatite auto-immune (overlap syndrome).
- 1 cas de cholangite biliaire associé à une polymyosite.

**Tableau X : Répartition des diagnostics retenus chez nos patients selon les étiologies suspectées**

Diagnostic suspectée	Nombre	Type d'anticorps	Diagnostic retenu	
Suspicion de cholangite biliaire primitive	58	57	Anti-M2/anti-GP210/anti-SP100	Cholangite biliaire primitive
		1	Anti-LC1/anti-SLA/anti-F-actine associé à anti-M2 /anti-M2 /anti-SP100/anti-GP210	Hépatite auto-immune associée (overlap syndrome)
Suspicion de HAI et/ou CBP	18	3	Anti-LC1/anti-SLA/anti-F-actine associé à anti-M2 /anti-M2 /anti-SP100/anti-GP210	Hépatite auto-immune et CBP (overlap syndrome)
		14	Anti-M2/anti-GP210/anti-SP100	Cholangite biliaire primitive
		1	Anti-M2/anti-GP210/anti-SP100 associé à anti-Jo1 /anti-PL7/anti-PL12	Cholangite biliaire primitive associée à une polymyosite
Suspicion de d'hépatite auto-immune	7	2	Anti-LC1/anti-SLA/anti-F-actine associé à anti-M2 /anti-M2 /anti-SP100/anti-GP210	Cholangite biliaire primitive associée (overlap syndrome)
		4	Anti-LC1/anti-SLA/anti-F-actine	Hépatite auto-immune
		1	Anti-M2 /anti-GP210/anti-SP100	Cholangite biliaire primitive
Suspicion de lupus érythémateux systémique	25	4	Anti-M2 /anti-GP210/anti-SP100	Cholangite biliaire primitive
		1	Anti-PL7/anti-PL12/anti-Jo1	Polymyosite
		20	Anti-nucléosome/anti-DNA/anti-Histone/anti-Sm/anti-Sm/Rnp	Lupus érythémateux systémique
Suspicion de polymyosites	13	2	Anti-M2/anti-GP210/anti-SP100	Cholangite biliaire primitive
		7	Anti-PL7/anti-PL12/anti-Jo1	Polymyosite
		3	Anti-PL7/anti-PL12/anti-Jo1 /anti-SRP24	Polymyosite (myopathie nécrosante)
		1	Anti-LC1/anti-SLA/anti-F-actine	Hépatite auto-immune
Suspicion de Gougerot Sjögren	4	3	Anti-SSA/anti-SSB	Gougerot Sjögren
		1	Anti-M2/anti-GP210/anti-SP100	Cholangite biliaire primitive
Suspicion de sclérodémie systémique	3	1	Anti-LC1/anti-SLA/anti-F-actine	Hépatite auto-immune
		1	Anti-SSA/anti-SSB	Gougerot Sjögren
		1	Anti-Scl70	Sclérodémie systémique
	<b>128</b>			



*DISCUSSION*



## I. Généralités

### 1. Les anticorps antinucléaires :

#### Historique et cadre nosologique :

Appelés initialement facteurs antinucléaires, les anticorps anti-nucléaires (AAN) ont été découverts indirectement en 1948 suite à l'observation in vitro du phénomène de nucléophagocytose par HARGRAVES. La cellule de Hargraves ou cellule LE est un polynucléaire neutrophile phagocyte le noyau lysé d'une autre cellule. Le cytoplasme de cette cellule comporte donc une inclusion hématoxylophile, couleur Lilas ou cyclamen, qui repousse le noyau normal en périphérie. La mise au contact du sérum du malade et de leucocytes de sujets normaux permet de reproduire le phénomène de nucléophagocytose qui traduit en fait la présence d'anticorps anti-nucléaires dans le sérum du malade. Ces anticorps ont des spécificités différentes : on distingue ainsi les anticorps anti-acide désoxyribonucléique (ADN), les antihistones et les anti-antigènes solubles du noyau.

Les AAN ne sont spécifiques ni d'organes ni d'espèces. Ils sont dirigés contre les constituants normaux du noyau cellulaire, parfois du cytoplasme. Ils appartiennent généralement aux trois principales classes d'immunoglobulines (Ig) : IgG, M, A.

#### Le rôle pathogénique des AAN :

La présence d'autoanticorps dans le sérum des sujets ne signifie pas qu'ils soient pathologiques (c'est-à-dire associés à une MAI) et/ou pathogènes (c'est-à-dire impliqués dans la genèse des lésions cellulaires et/ou tissulaires à l'origine des manifestations cliniques). On distingue schématiquement 3 types d'autoréactivité : naturelle, induite ou associée à une maladie auto-immune.

L'autoréactivité « naturelle » se définit par la présence d'autoanticorps dans le sérum des sujets normaux en dehors de tout processus pathologique. Les autoanticorps « naturels » sont en

règle de classe IgM, polyréactifs (reconnaissant plusieurs antigènes) et de faible affinité pour les antigènes. L'incidence de ces autoanticorps augmente avec l'âge en raison d'une baisse de l'activité suppressive des cellules NK. C'est ainsi que sont mis en évidence les facteurs rhumatoïdes (FR) de classe IgM (test de fixation du latex), les AAN et les anti-phospholipides chez les sujets de plus de 60 ans, et cela à une fréquence de 5 à 10%. Enfin, les femmes produisent davantage d'autoanticorps naturels (rôle favorisant des œstrogènes) que les hommes.

**L'autoactivité « induite »** résulte, entre autres, de l'activation polyclonale des lymphocytes B. Celle-ci est consécutive, soit à un état inflammatoire chronique lié à une infection chronique bactérienne (endocardite), virale ou parasitaire, avec production le plus souvent de FR mais aussi d'AAN, d'anti-phospholipides, de pANCA, etc, soit à une exposition à certains traitements (antiarythmiques, antihypertenseurs [ $\beta$ -bloquants], psychotropes, anticonvulsivants, sulfasalazine, anti-TNF, interférons) qui induisent l'apparition d'AAN, d'antihistones et/ou d'anti-phospholipides voire de pANCA (minocycline) et qui n'ont habituellement pas de signification pathologique, soit à une exposition à des toxiques (colorants, trichloréthylène...).

**L'autoactivité « pathologique »** est celle associée aux MAI (tableau XI). Elle n'est pas nécessairement dissociée de l'autoactivité « naturelle » car elle résulte généralement d'un processus de sélection médié par l'antigène, qui induit des mutations somatiques au niveau des régions variables des immunoglobulines, conduisant à la production d'autoanticorps de classe IgG, en règle monospécifiques (se liant à un seul antigène) et de forte affinité. En outre, tous les autoanticorps pathologiques ne sont pas pathogènes. En effet, la présence d'autoanticorps associés à une connectivité est dans bon nombre de cas qu'un épiphénomène, la production de ces autoanticorps étant associée à l'activité de la maladie (comme les FR dans la PR), à l'inflammation chronique (cas du pANCA) ou à une réponse auto-immune médiée par les lymphocytes T.

**Tableau XI : Classification des maladies auto-immunes spécifiques et non spécifiques d'organe [64]**

Maladie auto-immune non spécifique d'organe	Maladie auto-immune spécifique d'organe
Lupus systémique Syndrome de Gougerot Sjogren Syndrome de Reiter Polyarthrite rhumatoïde Sclérodermie systémique Polymyosite dermatomyosite Connectivite mixte Polychondrite atrophiante Vascularite primitive Syndrome des anti-phospholipides	Glandes endocrines : -thyroïdites (basedow, Hashimoto) -diabète type 1 -maladie d'Addison (surrénales) Foie et tube digestif : -Hépatopathies auto-immunes :(cholangite biliaire primitive, hépatite auto-immune cholangite sclérosante) -maladie cœliaque -maladie de Biermer Appareil neuromusculaire : -sclérose en plaque -myasthénie -neuropathies et encéphalo-myélites auto-immunes Peau : Maladie bulleuse auto-immune, vitiligo, psoriasis

**La recherche des autoanticorps :**

La recherche des autoanticorps est un examen très régulièrement utilisé dans les situations cliniques peu claires. Leur détection repose sur une démarche en cascade avec deux méthodes qui sont habituellement utilisées pour rechercher les AAN (figure-6) Il faut commencer par un dépistage à l'aide d'une immunofluorescence indirecte, puis si celui-ci est positif, il se poursuit par une étape d'identification grâce aux techniques immunoenzymatiques, types ELISA, immunodot, immunoblot ou autres, et dont l'objectif est la caractérisation du ou des antigènes cibles reconnus par l'AAN dépisté [7].

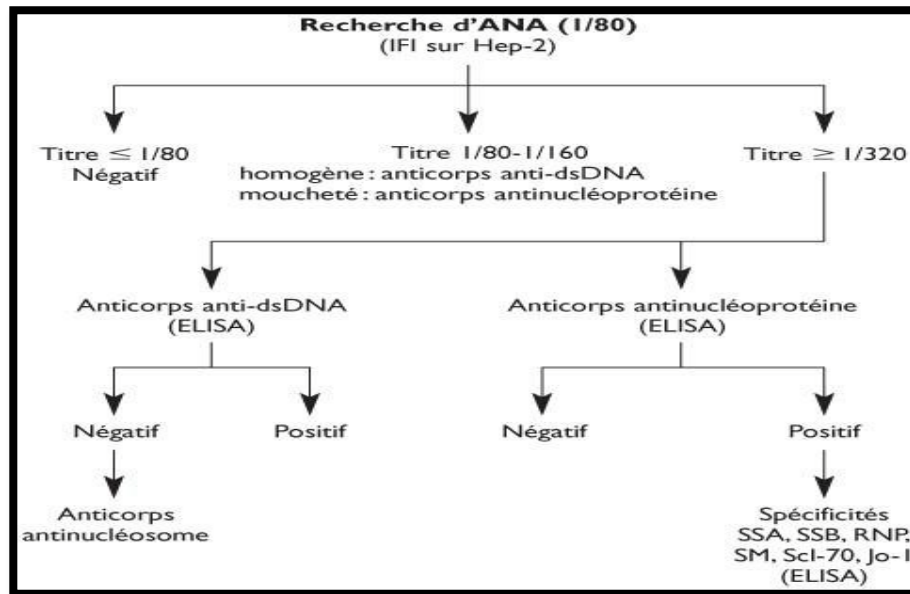


Figure-6 : Démarche diagnostique pour la recherche et l'identification des AAN [7]

## 2. Méthodes de détection des AAN :

De nombreuses méthodes sont utilisées pour la recherche des autoanticorps. Elles consistent à visualiser l'interaction de l'autoanticorps à rechercher avec son antigène cible à l'aide d'un anticorps anti-immunoglobulines humaines marqué par un fluorochrome, une enzyme, un isotope radioactif ou un luminogène (appelé aussi conjugué). L'immunofluorescence indirecte (IFI) sur des préparations cellulaires ou coupes de tissus est le plus souvent une technique de dépistage. Les techniques immunoenzymatique radio-immunologiques, fluorimétriques ou la chimiluminescence permettront d'identifier la cible des autoanticorps dépistés mais aussi de rechercher des autoanticorps de façon directe et spécifique [8].

### Principe et Technique d'immunofluorescence :

#### a. Historique :

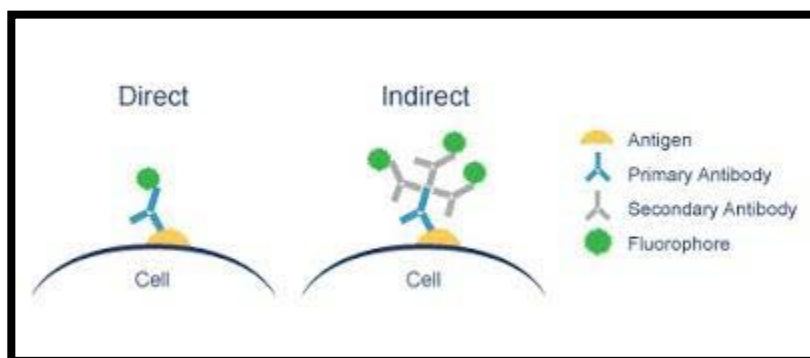
Certaines substances possèdent la particularité d'émettre une lumière d'une certaine couleur lorsqu'elles sont illuminées par une source lumineuse d'une autre couleur : elles sont dites luminescentes. Si la lumière émise est générée dans le millionième de seconde on parlera alors de

fluorescence. Les molécules fluorescentes (fluorophore ou fluorochrome) absorbent de l'énergie lumineuse (lumière d'excitation) et la restituent rapidement sous forme de lumière de plus grande longueur d'onde (lumière d'émission). Une fois l'énergie du photon absorbée, la molécule se trouve dans un état électroniquement excité et c'est l'émission d'un photon de plus grande longueur d'onde qui permettra le retour à l'état fondamental de la molécule.

En 1941, AH Coons et NK Kaplan ont été les premiers à coupler une molécule fluorescente à un anticorps pour permettre la détection spécifique d'un antigène sur une coupe de tissu [9].

**b. Définition :**

L'immunofluorescence indirecte (IFI) est la technique de référence pour le dépistage des ANA. Elle repose sur l'utilisation de cellules HEp2 (Human Epithelial cell line type 2), dérivées d'une lignée tumorale (carcinome laryngé), dont les structures nucléaires sont reconnues par l'Ac du patient [9]. Ces cellules offrent l'avantage de présenter de multiples mitoses, utiles à l'interprétation et à l'identification des différents types d'auto-Ac [62,61]. En pratique, les lames sur lesquelles ont été cultivées les cellules HEp-2 sont incubées avec le sérum du patient à des dilutions croissantes. Les Ac fixés sur ces cellules sont ensuite révélés grâce à un conjugué anti-IgG humaine couplé à un fluorochrome (figure-7). La lecture des lames et leur interprétation se font à l'aide d'un microscope à fluorescence. Le seuil de détection (ou de positivité) utilisé est généralement de 1/160 ème chez l'adulte et 1/80ème chez l'enfant [60].



**La figure-7 :**Correspond à un principe d'immunofluorescence indirecte et directe  
**c. Principe :**

La technique d'immunofluorescence indirecte (IFI) est une technique basée sur la détection au niveau sérique d'une réaction antigène/anticorps. Elle s'effectue en deux temps : le complexe antigène-anticorps est révélé par un anticorps marqué spécifique de l'isotype du premier anticorps. Lors d'une première incubation, le sérum du patient, source potentielle d'autoanticorps, est mis au contact d'un substrat (tissus ou cellules déposés dans les puits d'une lame de microscope).

Après lavage, pour éliminer les protéines fixées faiblement de manière non spécifique, une deuxième incubation est réalisée avec un antisérum spécifique des immunoglobulines humaines marqué par des fluorochromes. Ces derniers sont des substances ayant pour propriétés d'émettre une fluorescence dans le visible lorsqu'ils sont excités par une lumière dans les longueurs d'onde de l'ultra-violet. Trois fluorochromes sont d'utilisation courante : l'isothiocyanate de fluorescéine, la phycoérythrine et la rhodamine. La lecture se fait à l'aide d'un microscope à fluorescence équipé en épilumination.

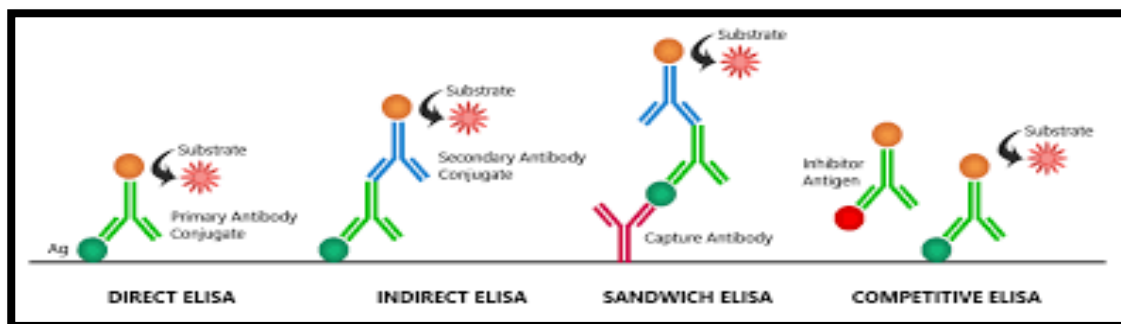
#### **Les techniques immunoenzymatiques :**

##### **a. La méthode ELISA :**

L'ELISA (*enzyme linked immunosorbent assay*), également appelée EIA (*enzyme immuno assay*) est une technique de détection immunoenzymatique des complexes antigènes-anticorps d'intérêt et cela grâce à une réaction colorée produite par l'action d'une enzyme préalablement fixée à un anticorps ou à un antigène sur un substrat. L'intensité de la coloration obtenue, mesurée par spectrophotométrie, est proportionnelle à la quantité d'enzyme présente et donc à la concentration d'anticorps (Ac) ou d'antigène (Ag) recherchés. Le résultat peut être exprimé de manière qualitative, ou semi-quantitative par comparaison de la densité optique de l'échantillon avec celle d'une série de calibrateurs, ou quantitative si l'on utilise une gamme étalon (solution de concentration connue de l'analyte). Le seuil de détection des ELISA quantitatives est de l'ordre du pmol/L ou ng/L [11 12].

Il existe différents types d'ELISA (figure-8) :

- ELISA direct : l'analyte d'intérêt (Ag ou Ac) est adsorbé sur une microplaque. Après fixation, celui-ci est révélé à l'aide d'un Ac primaire ou d'un Ag marqué par une enzyme.
- ELISA indirect : l'Ag spécifique de l'Ac recherché est adsorbé sur une microplaque. Après fixation, l'Ac d'intérêt est révélé à l'aide d'un Ac secondaire marqué par une enzyme.
- ELISA sandwich : un Ac primaire spécifique de l'Ag d'intérêt est adsorbé sur une microplaque. Après fixation, l'Ag est révélé à l'aide d'un Ac secondaire marqué par une enzyme. Cette technique nécessite 2 Ac monoclonaux (Acm) reconnaissant des épitopes différents de l'Ag.
- ELISA par compétition : l'analyte d'intérêt entre en compétition avec l'Ag ou Ac marqué pour la liaison à l'analyte adsorbé. On mesure la fraction liée qui diminue exponentiellement avec la concentration en analyte à doser. Cette méthode nécessite l'emploi d'un traceur, qui est un analogue de l'analyte marqué par une enzyme. Elle permet la détection de petites molécules type haptènes [11,12].

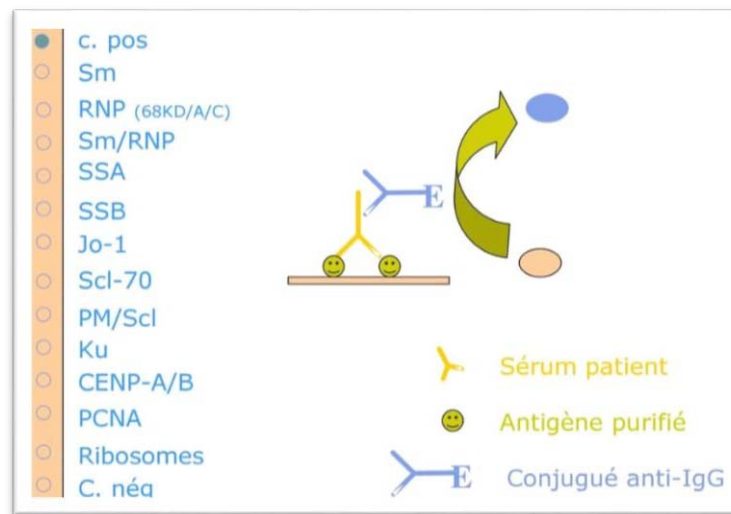


**Figure-8** : Représentation schématique du principe des différents types d'ELISA.

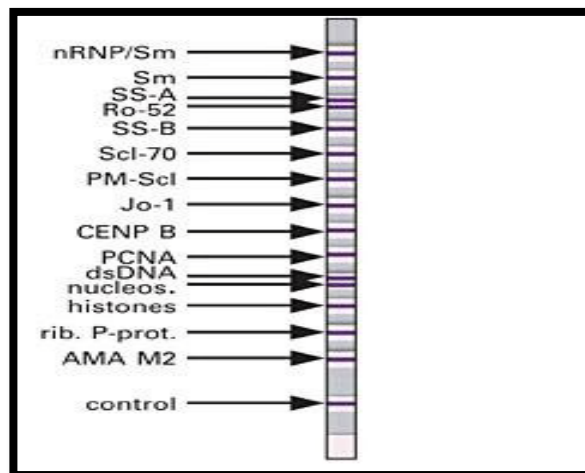
**b. La méthode immunodot/blot :**

C'est une méthodologie utilisée pour l'identification d'anticorps anti-antigènes nucléaires solubles, déposés sous forme de gouttes et fixés sur des bandelettes de nitrocellulose. Les bandelettes sont ainsi incubées avec le sérum du patient étudié (Figure9. et 10). [13].

Comme l'ELISA, la technologie Immunodot ou blot est la seconde étape pour la confirmation de la spécificité antigénique des différents AAN.



**Figure-9** : Représentation schématique de la technique d'immunodot



**Figure -10** : Résultat d'autoanticorps identifiés par une technique d'immunoblot

**c. La méthode de chimioluminescence :**

En *chimioluminescence*, technique apparentée à l'ELISA, le conjugué est marqué par un composé chimioluminescent, c'est-à-dire capable de produire de la lumière en présence de solutions d'activation (par exemple l'ester d'acridinium qui, à pH alcalin, émet de la lumière). La réaction chimioluminescente (éclair de lumière) résultante est mesurée en unités relatives de lumière (URL) par un photomètre et comparée au signal d'un contrôle en valeur seuil.

**Autres techniques :**

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.

La fluorimétrie en flux (technologie Luminex®), dérivée de la cytométrie en flux, peut être utilisée pour rechercher des panels d'anticorps définis par les firmes.

Les méthodes radio-immunologiques, en phase liquide ou solide, sont utilisées pour la recherche de certains autoanticorps très particuliers. Elles sont indispensables pour la recherche des autoanticorps anti-récepteurs membranaires (récepteurs de l'acétylcholine, MuSK) et des anticorps anti-canaux ioniques (potassiques, calciques). [8]

### **3. Détection des anticorps antinucléaires**

Les AAN sont habituellement recherchés par immunofluorescence indirecte (IFI) sur la lignée cellulaire humaine HEp2 (carcinome laryngé). Elle se faisait, jadis, sur des coupes tissulaires animales, notamment des coupes de foie de rat. Bien que ce dernier substrat ne doit plus être utilisé seul, il reste néanmoins utile et complémentaire des analyses effectuées sur les cellules HEp2. Le seuil de positivité a régulièrement évolué dans les dernières années et celui qui est généralement retenu de nos jours est de 1 / 160 ème Classiquement, la fluorescence observée est de type homogène, mouchetée, nucléolaire cerclée et/ou en dot. Chacun de ces aspects de fluorescences peut s'observer de manière isolée ou associée aux autres aspects [10].

La positivité du test de dépistage par IFI indique la présence d'anticorps dirigés contre un ou plusieurs antigènes nucléaires.

L'aspect homogène est typiquement associé à la présence d'anticorps anti-dsDNA (double-stranded DNA), très évocateurs d'un lupus érythémateux systémique (LES), alors que l'aspect moucheté correspond à la présence d'autoanticorps connus sous le terme d'ENA (extractable nuclear antigène : SSA, SSB, Sm, RNP, Scl70, ACA...) rencontrés dans de nombreuses maladies auto-immunes (tableau XI). On décrit parfois aussi une fluorescence de type nucléolaire rencontrée notamment dans un contexte de sclérodémie [15].

**Tableau XII : Aspect des anticorps antinucléaires sur cellules Hep-2.**

Aspect	Antigènes	Maladies associées
Homogène	dsDNA, histone Anti-ADN natif, anti-histone, anti-nucléosome	LES
Moucheté : - grossier - moyen - fin - discret	-RNP, Sm -SSA, SSB -Scl70 -centromère	-MCTD, LES -Sjögren, LES -Sclérodemie -CREST
Nucléolaire	ARN polymérase I, Anti-PM/Scl	Sclérodemie

Le type de la fluorescence observée et le titre des anticorps sont des éléments qui orientent le biologiste lors de la caractérisation des spécificités antigéniques reconnues, dans ce cas, en utilisant une ou plusieurs méthodes permettant l'identification des différentes spécificités autoanticorps suspectées [13].

#### **4. Principaux aspects des anticorps antinucléaires et leur signification clinique**

Pour des raisons de commodité, ces spécificités seront classées ici en fonction du type de fluorescence donnée sur cellules HEp2.

##### **Fluorescence nucléaire**

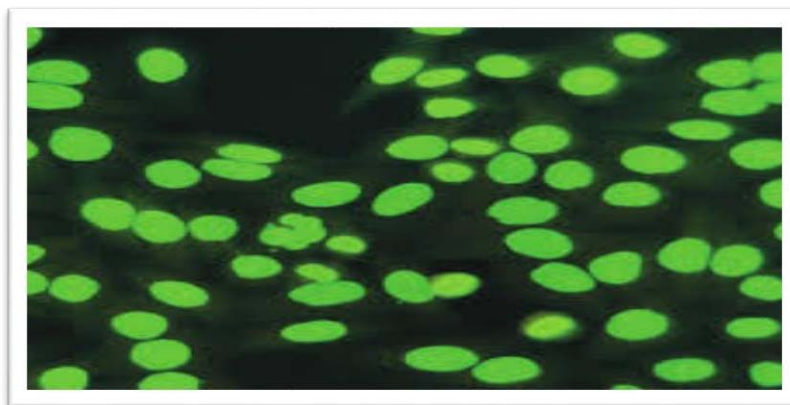
###### **a. Fluorescence nucléaire homogène :**

Une fluorescence homogène des noyaux (photo-1) peut être donnée par différentes spécificités antinucléaires, dominées avant tout par les réactivités anti-ADN (figure-11), antinucléosomes et antihistones. Elle peut, lorsque le titre d'anticorps antinucléaires est élevé, donner un renforcement périphérique (photo-2), lequel doit être distingué de la fluorescence cerclée. Celle-ci se caractérise par un liseré fin, dessinant la périphérie du noyau et témoigne de la présence d'anticorps dirigés contre des structures de l'enveloppe nucléaire [21].

*Les anticorps anti-ADN :*

Deux spécificités doivent être distinguées : anti-ADN simple brin (ssDNA pour single stranded DNA) et anti-ADN double brin (dsDNA). La première variété (anti-ssDNA) n'a aucune valeur diagnostique. Elle est fréquemment observée chez les malades possédant des anticorps anti-phospholipides (APL) et antimitochondries de type M5. En revanche, les anticorps anti-dsDNA ont une grande valeur diagnostique pour le lupus érythémateux systémique (LES), bien qu'ils n'en soient pas strictement spécifiques. Ils s'observent en effet, quoique rarement, au cours de la polyarthrite rhumatoïde, du syndrome de Sharp (connectivite mixte), du syndrome de Gougerot-Sjögren, du SAPL, et des hépatopathies auto-immunes et médicamenteuses.

Le titre des anticorps anti-dsDNA suit fidèlement l'activité de la maladie lupique. En général, ce titre augmente précocement, précédant l'apparition de manifestations cliniques, hématologiques ou biologiques (rénales etc.), invitant le praticien à surveiller de manière plus rapprochée le patient et éventuellement à ralentir ou à cesser de diminuer la corticothérapie (et/ou le traitement immunosuppresseur) [10].

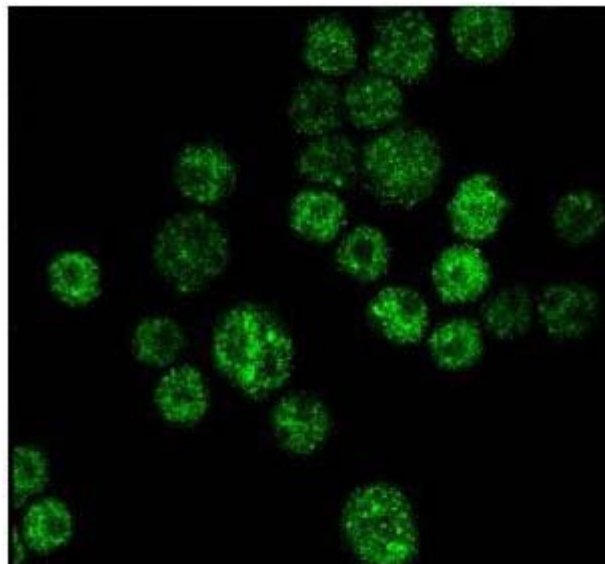


**Photo 1** : Aspect IFI de type Homogène évocateur d'anticorps anti-ADNn

*Les anticorps anti-histones :*

Les cibles de ces anticorps sont les histones H1, H2 A, H2B, H3 et H4. Elles peuvent être identifiées par Elisa ou western blot. Cette réactivité n'est pas spécifique d'une pathologie particulière. Elle se rencontre au cours du LES, de la polyarthrite rhumatoïde, de l'arthrite chronique juvénile, du syndrome de Gougerot-Sjögren, de la sclérodermie, de la cholangite biliaire

primitive, voire au cours de certaines infections. Elle se voit de manière pratiquement constante au cours du lupus induit (notamment les formes induites par la procainamide la quinidine ou la D-penicillamine), avec un intérêt tout particulier accordé à la spécificité anticomplexe H2 A/H2B. Cette réactivité n'est cependant pas spécifique du lupus induit. Lors de l'utilisation des médicaments cités ci-dessus le diagnostic de lupus induit est notamment suspecté. L'absence d'une telle réactivité constitue-t-elle un argument de poids contre cette hypothèse diagnostique ? L'évolution des manifestations (dont la présence d'AAN) à l'arrêt du médicament est sans doute déterminante pour retenir ou écarter ce diagnostic [30].



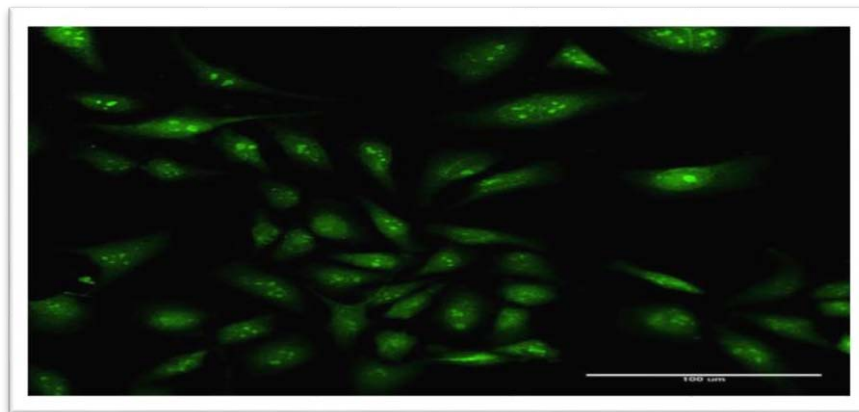
2012 Abcam

**Photo-2 : Aspect IFI des anticorps anti-histones**

*Les anticorps antinucléosomes :*

Ces anticorps reconnaissent une unité fonctionnelle composée d'ADN bicaténaire et d'histones (160 paires de bases enroulées autour d'un octamère d'histones). Ils doivent être distingués des anticorps réagissant sélectivement avec l'ADN ou les histones. Ils sont généralement détectés par Elisa. Ils s'observent dans 70 à 80 % des LES, y compris les formes où manquent les anticorps anti-dsDNA. Leur apparition pourrait précéder celle des anticorps anti-

dsDNA. Leur présence et leur titre seraient corrélés à l'activité de la maladie et à la survenue d'une atteinte rénale. Ils peuvent également s'observer au cours de la connectivite mixte et de la sclérodermie ainsi que chez le sujet infecté par le VIH. Malgré l'intérêt physiopathologique réel des autoanticorps, leur place exacte dans le diagnostic et le suivi du LES n'est toujours pas claire. D'ailleurs, contrairement aux anticorps anti-dsDNA, ils ne font pas partie des critères révisés de l'ACR pour le diagnostic du LES et leur recherche reste limitée à un petit nombre de laboratoires [10].



**Photo 3: Aspect IFI d'anticorps anti-nucléosome**

**b. Fluorescence nucléaire mouchetée :**

Elle est principalement produite par les anticorps anti-antigènes nucléaires solubles appelés aussi anti-ENA (ou anti-ECT). Ils peuvent être dirigés contre une grande variété de cibles antigéniques identifiables par des tests de sensibilité et de spécificité inégales : double immunodiffusion (actuellement abandonnée), western-blot, Elisa, dot-blot.

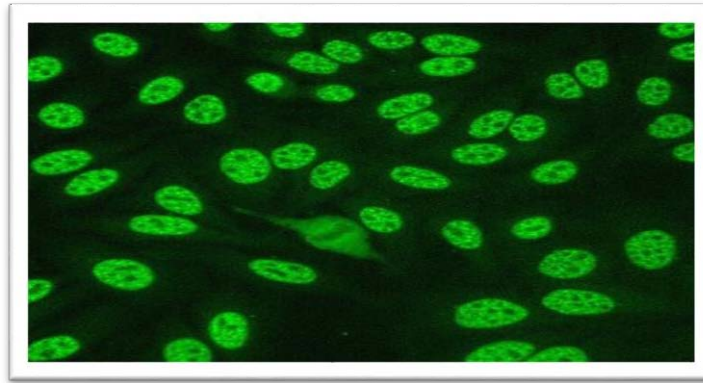
***Les anticorps anti-snRNP :***

Il s'agit d'anticorps dirigés contre une famille de ribonucléoprotéines jouant un rôle important dans l'épissage des ARN pré messagers. Il existe cinq grandes familles de snRNP : U1, U2, U4, U5 et U6. Ces ribonucléoprotéines peuvent s'associer à un grand nombre de peptides (plus de 11 ont été rapportés), dont le poids moléculaire varie de 11 à 70 kD (p70, A, A', B, B', B'', C, D, E, F et G). Les anticorps anti-U1 snRNP (constitués de U1 et des peptides p70, A et C) sont ceux

habituellement recherchés en pratique clinique (photo-3). Ils sont utiles voire indispensables au diagnostic de la connectivite mixte ou du syndrome de Sharp (syndrome de chevauchement associant des manifestations de lupus, de sclérodémie, de polymyosite et des doigts « boudinés »), où ils sont observés dans 100% des cas. Mais ils peuvent se rencontrer aussi dans 20 à 25 % des LES, dans le syndrome de Gougerot-Sjögren, dans la sclérodémie ou lors d'une polymyosite. Des formes apparemment sévères de polymyosite, souvent associées à une pneumopathie interstitielle, à une neuropathie périphérique et à des anticorps anti-U1snRNP, ont été rapportées chez des sujets noirs. Le pronostic est généralement bon avec une excellente réponse à la corticothérapie, malgré la présence de signes considérés habituellement comme des critères de mauvais pronostic : tels que l'atteinte pulmonaire interstitielle, et les signes biologiques inflammatoires. Les autres anticorps anti-snRNP ont une valeur diagnostique bien moindre : anti-U2nRNP (A' et B'') et anti-U4/U6nRNP lesquels se voient dans des sclérodémies avec ou sans myosite, dans une connectivite mixte ou lors d'un syndrome de Gougerot-Sjögren [21].

*Les anticorps anti-Sm :*

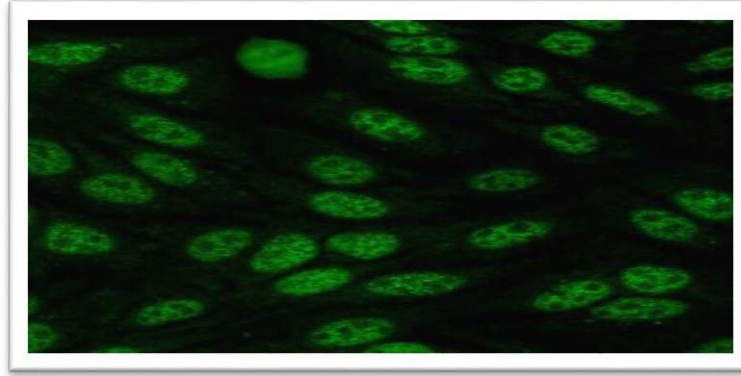
Ils sont fréquemment associés aux anticorps anti-U1snRNP. Le western-blot permet de distinguer les deux spécificités, dans la mesure où les anticorps anti-snRNP reconnaissent en western blot la protéine p70 mais pas les polypeptides D (16 kD) et G, à l'inverse des anticorps anti-Sm. Les anti-Sm se rencontrent dans 5-30 % des lupus, mais en sont fortement spécifiques. Les situations, autres que le LES, dans lesquelles les anti-Sm ont été rencontrés, restent exceptionnelles. Une surveillance régulière de ces malades est souhaitable pour ne pas méconnaître l'apparition ultérieure d'une maladie lupique, d'autant plus que le patient avait une symptomatologie clinique qui justifiait la recherche d'AAN [10].



**Photo 4: Aspect IFI d'anticorps anti-Sm/RNP**  
*b.3. Les anticorps anti-Ro/SSA :*

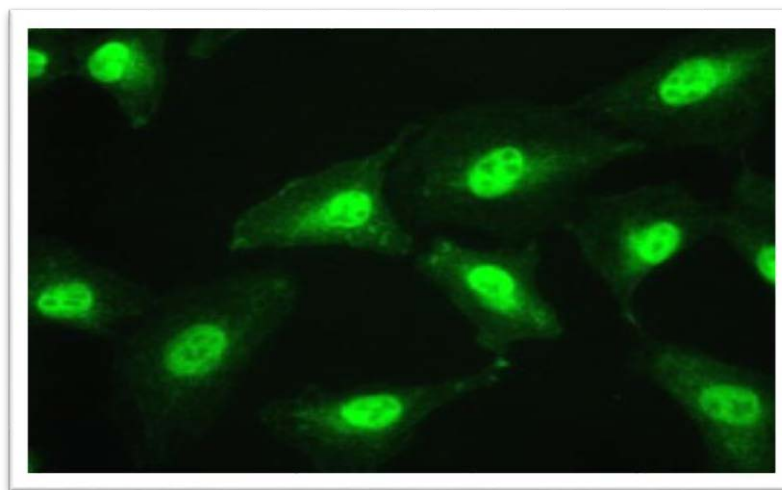
Ces anticorps sont dirigés contre diverses ribonucléoprotéines (dont les deux principales ont des poids moléculaires de 52 et 60 kD). Ils donnent en IFI un aspect moucheté des noyaux (photo-5), de détection plus aisée depuis la commercialisation de cellules HEP2000 surexprimant, par transfection, l'antigène Ro/SSA. Cette spécificité peut être identifiée essentiellement par dot-blot, et/ou Elisa. La réactivité anti-Ro/SSA peut s'observer au cours du syndrome de Gougerot-Sjögren, plus fréquemment lors des formes primaires (70 %) que secondaires (30 %). Ils se voient également au cours du lupus discoïde, subaigu ou érythémateux disséminé ainsi que dans diverses autres affections auto-immunes : polyarthrite rhumatoïde, sclérodermie, polymyosite (avec activité anti-J01...). La singularité de ces autoanticorps réside dans le fait que malgré la grande diversité des étiologies qui leur sont associées, ils gardent une valeur diagnostique appréciable dans un certain nombre de situations :

- Le lupus sans anticorps anti-dsDNA ;
- Le lupus subaigu marqué par des lésions cutanées intéressant les zones photo-exposées et une atteinte de la muqueuse buccale ;
- Le lupus néonatal et le bloc auriculo-ventriculaire congénital. La survenue de ce trouble conducteur est rare ( $\approx 1$  à 5 % des enfants nés de mères possédant une réactivité anti-Ro/SSA, notamment de type anti-p52), variable selon la pathologie auto-immune sous-jacente de la mère et imprévisible. Mais il est suffisamment grave pour justifier une surveillance cardiaque étroite du fœtus et du nouveau-né [21].



**Photo 5 : Aspect IFI des anticorps anti-Ro/SSA**  
*b.4. Les anticorps anti-La/SSB :*

Ces autoanticorps reconnaissent une phosphoprotéine de 48–52 kD qui pourrait être une protéase (ARN polymérase III) associée à certaines formes d'ARN. Ils s'observent dans 10 à 90 % des syndromes de Gougerot-Sjögren (plus fréquemment dans les formes primaires) presque toujours associés à une activité anti-Ro/SSA, ainsi que dans 5 à 20 % des LES (moins fréquemment que les anti-Ro/SSA) et au cours du lupus néonatal [10].

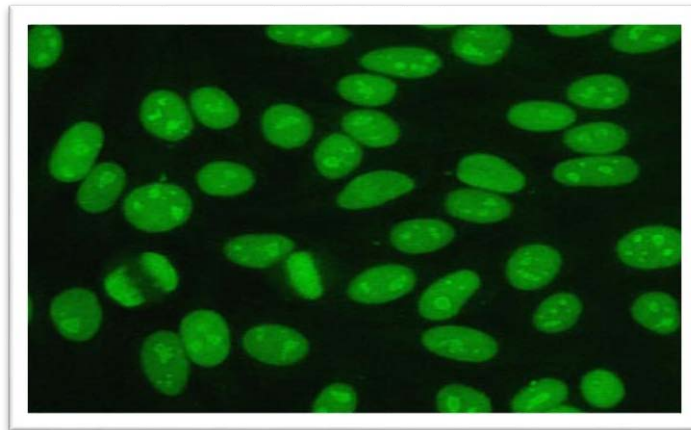


**Photo 6 : Aspect IFI des anticorps anti-Ro/SSB**

*Les anticorps anti-Scl70*

Il s'agit d'anticorps dirigés contre la topoisomérase de type 1, dont le poids moléculaire est de 86 à 100 kD (photo-7) Leur détection peut se faire par double immunodiffusion, dot blot et/ou western-blot. Ils s'observent dans 34 à 70 % des sclérodermies diffuses dont ils sont hautement

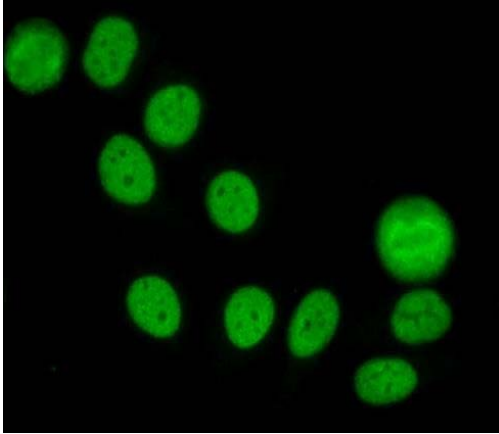
spécifiques. Leur association à cette forme de sclérodermie d'évolution plus sévère que le syndrome de CREST [CREST : correspond à l'abréviation des pathologies suivantes : syndrome de calcinose sous-cutanée (C), maladie de Raynaud(R), dysfonction de l'œsophage (E), sclérodactylie (S) et télangiectasies (T)], leur confère une valeur pronostique. Il est important de souligner que les anticorps anti centromères et anti-Sc170 s'excluent en général : les premiers s'observant dans le syndrome de CREST, les seconds dans la sclérodermie systémique. Néanmoins, dans moins de 0,5 % des cas, des anti-Sc170 anti centromères peuvent coexister chez le même patient [21].



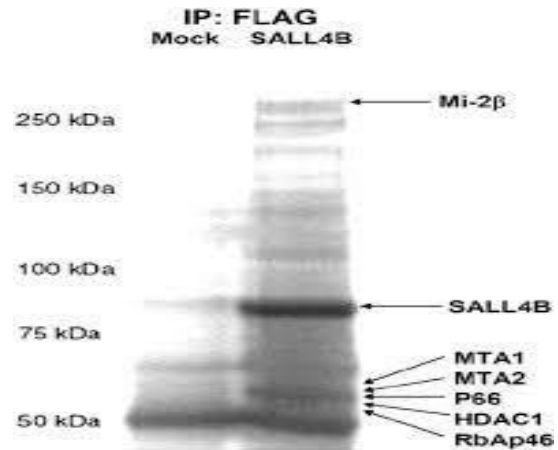
**Photo 7 : Aspect des anticorps anti-Sc170 à l'IFI**

*Les anticorps anti-Mi2 :*

Ils sont dirigés contre diverses cibles, dont la protéine p240 (photo-6 et figure-11). Ils se voient essentiellement dans les dermatomyosites (15 à 20 % des cas) et dans les polymyosites (moins de 5 % des cas). [30].



**Photo-8:** Aspect des anticorps anti-Mi2

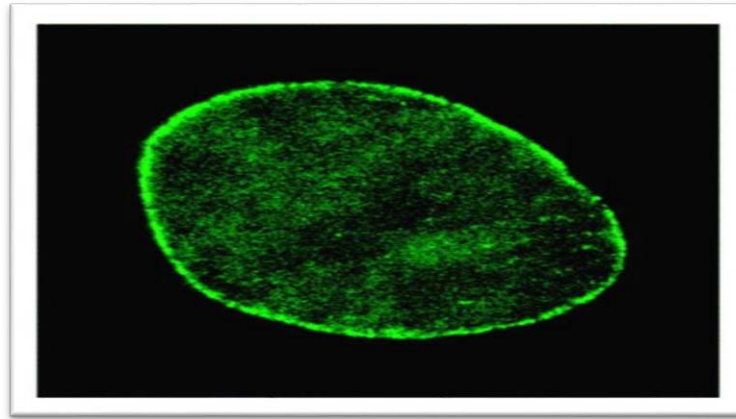


**Figure-11 :** Profil western objectivant la bande Mi2

**c. Fluorescence nucléaire membranaire :**

*Les anticorps anti-gp210*

Ils représentent le second marqueur immunologique de la CBP et sont actuellement les seuls Ac anti-membrane nucléaire qui peuvent être caractérisés en pratique courante. Ces Ac ont d'abord été observés par IFI (sur foie de rat : aspect cerclé du noyau sans fluorescence nucléaire (photo-14), ou sur cellules Hep-2 : marquage de la membrane nucléaire d'aspect ponctué) puis par immunoblot à partir d'une protéine d'enveloppe nucléaire, une glycoprotéine de 210 kD, localisée à la jonction des membranes interne et externe en regard des pores nucléaires. Ces AAC sont actuellement mis en évidence par ELISA avec une protéine recombinante ou un peptide synthétique comprenant l'épitope dominant. La sensibilité des Ac anti-gp210 au cours de la CBP est de 25 à 43 % avec une spécificité excellente (99 %). Par ailleurs, ces AAC présentent un réel intérêt dans les CBP séronégatives où ils sont retrouvés dans 50 % des cas. Leur mise en évidence affirme donc le diagnostic, même en l'absence d'AAM2. Il semble établi que ces AAC soient des marqueurs de mauvais pronostic. En effet, une mortalité plus importante a été observée dans le groupe de CBP avec Ac anti-gp210. La plupart des études s'accordent sur le fait que la positivité des AAC anti-gp210 est un facteur de risque de progression vers l'insuffisance hépatique, augmentant ainsi le risque de transplantation et de décès [18].

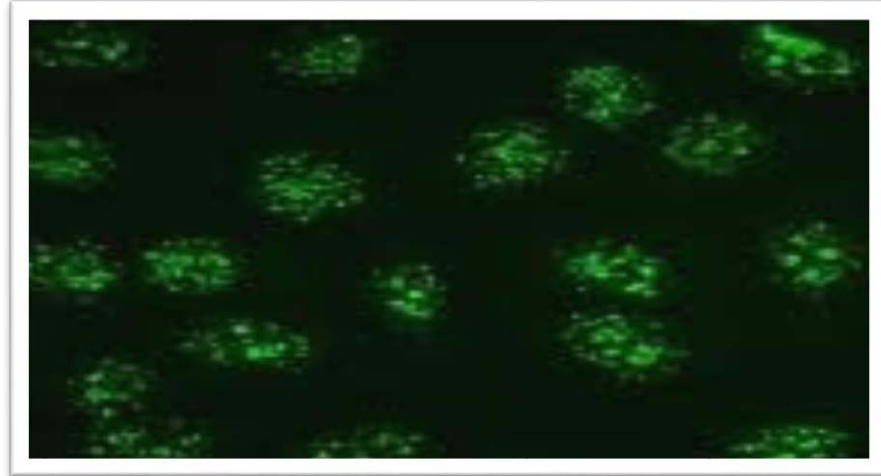


**Photo 9 : Aspect des autoanticorps anti-gp210**

**d. Fluorescence nucléaire Dots multiples**

*Les autoanticorps anti-Sp100 :*

Donnant par IFI un aspect à grains nucléaires multiples (« anti-nuclear dots antibodies » ou NMD), les Ac anti-Sp100 sont retrouvés dans 10 à 30 % des CBP. Les Ac anti-PML (« promyelocytic leukemia ») ne seraient présents sans Ac anti-Sp100 associés que dans moins de 4 % des CBP. Une autre variété d'Ac, dits anti-Sp140 seraient également présents dans la CBP à une fréquence d'environ 15 %. Ces derniers seraient surreprésentés chez les patients AAM2 négatifs et seraient redondants avec les anti-Sp100 dans 95 % des cas. Le statut sérologique des Ac anti-Sp100 ne varie généralement pas au cours de la maladie. Le suivi du titre de ces Ac pourrait toutefois avoir un intérêt : sa diminution serait corrélée à celle du "Mayo risk score" et à une meilleure réponse au traitement par AUDC (l'acide ursodésoxycholique). Ces Ac seraient également associés à une progression histologique plus rapide de la maladie et à une fréquence plus grande d'infection urinaire. Une étude récente a montré que la positivité des Ac anti-Sp100 n'a pas d'influence significative sur le risque de décès, de transplantation hépatique, de décompensation œdémato-ascitique ou d'hypertension [19] [59].

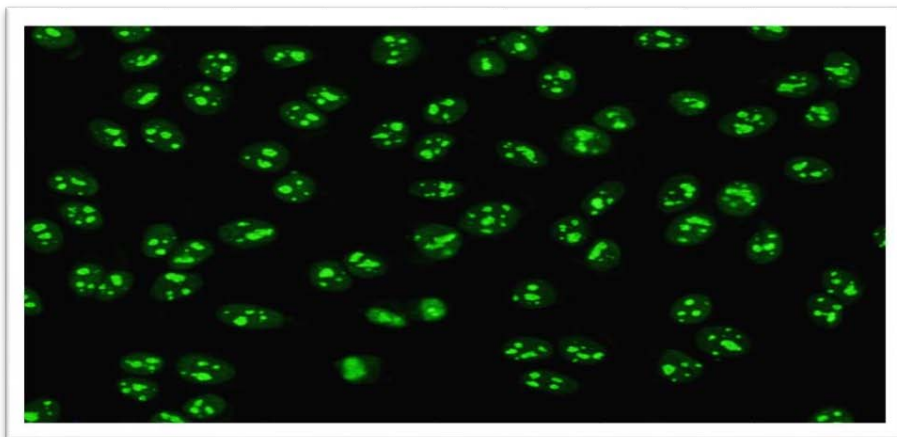


**Photo-10 : Aspect des autoanticorps anti-Sp100**

**Fluorescence nucléolaire :**

**a. Fluorescence nucléolaire homogène**

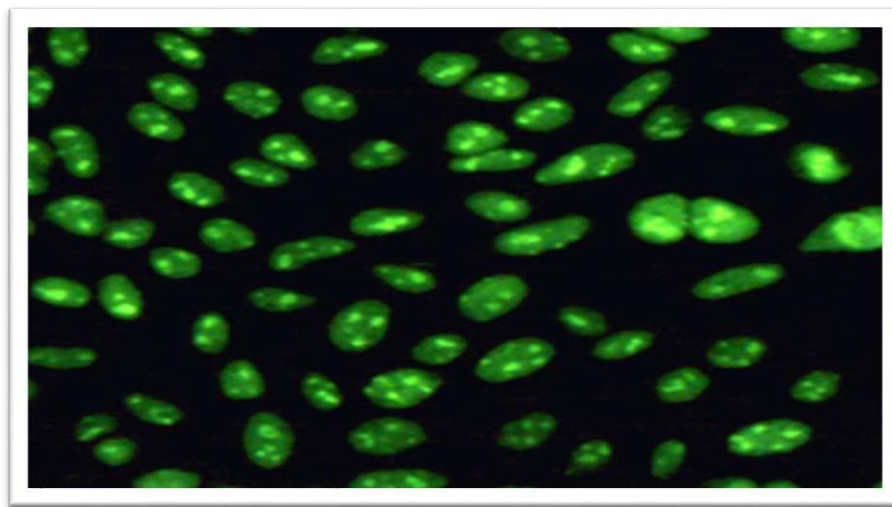
Définis par l'aspect qu'ils donnent en IFI [dessinant le(s) nucléole(s)] (photo-8), ces anticorps s'observent au cours de la sclérodémie (50 % des cas), des dermatopolymyosites (6 %), de la PR (10 %), du syndrome de Gougerot-Sjögren (5 à 8 %) et moins fréquemment au cours du LES, du lupus induit, du SAPL, des HTAP primitives et de manière anecdotique dans diverses affections auto-immunes et systémiques. Les principales cibles antigéniques sont PM/Scl, nucleophosmine, Th RNP-Io, NOR-90, fibrillarine, RNA-P II et III, U3RNP et nucleoline. Les activités PM/Scl et anti-RNAP méritent d'être commentées [21].



**Photo-11 : Aspect de fluorescence nucléolaire**

*Les anticorps anti-PM-Scl :*

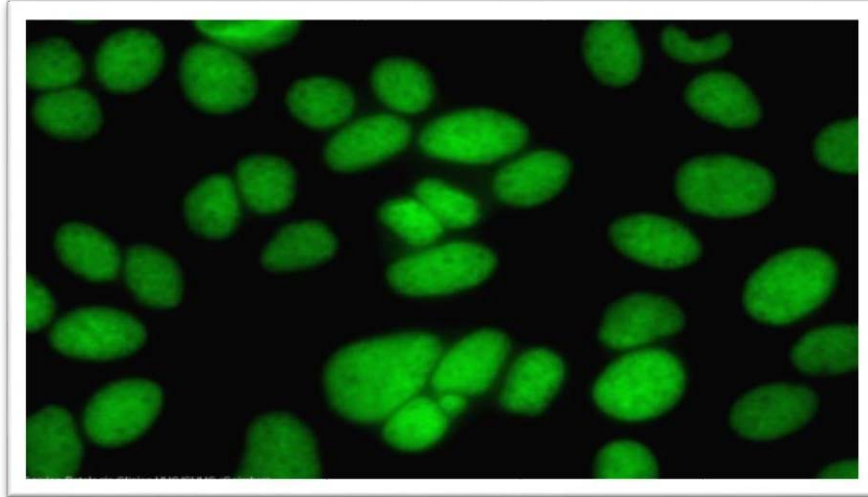
Il s'agit d'autoanticorps qui réagissent avec un complexe multimérique composé de diverses protéines (p100, p75 et p37) (photo-9). Ils s'observent essentiellement dans les dermatopolymyosites, notamment dans des syndromes de chevauchement associant une myosite et une sclérodermie, définissant un sous-groupe de patients ayant une incidence élevée de phénomène de Raynaud, d'arthrite et de pneumopathie interstitielle. [30].



**Photo 12 : Aspect IFI des anticorps anti-PM/Scl**

*a.2. Les anticorps anti-Ku :*

Ces autoanticorps sont dirigés contre une hélicase. Leur détection peut se faire par dot blot ou par western-blot (donnant un doublet typique de 70-80 kD). En IFI, ils donnent un marquage nucléolaire mais plus souvent un aspect réticulé du noyau (photo-10). Leur valeur diagnostique est limitée puisque ces anticorps peuvent s'observer au cours de la sclérodermie, notamment les formes associées à une myosite, mais aussi au cours de la connectivite mixte, des LED (près de 10 % des cas) et dans les HTAP [21].

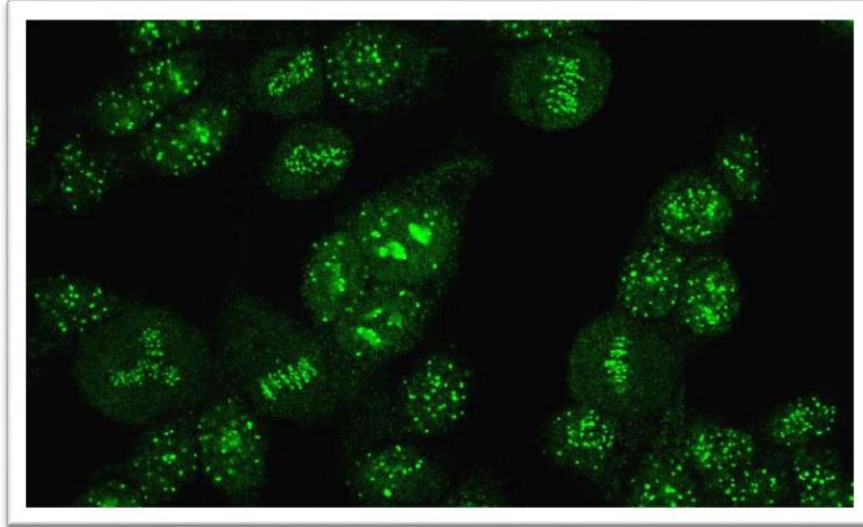


**Photo 13 : Aspect IFI des anticorps anti-Ku**

**b. Fluorescence nucléolaire Dots**

*Les anticorps anti centromères :*

Ils se définissent par leur aspect en immunofluorescence indirecte (photo-14). Il est possible, d'en préciser la cible exacte : CENP-A (p17), -B (p80), -C (p140), -D (p50), -F (p400), mais une telle identification semble inutile en routine dans l'état actuel de nos connaissances. Il est important de souligner que les études menées sur les anticorps anti-centromères, notamment celles relatives à leur valeur diagnostique et pronostique reposent uniquement sur leur identification par IFI. Ils se rencontrent essentiellement au cours du syndrome de CREST (80 à 100 % des cas), forme de sclérodémie de relatif bon pronostic. Néanmoins, cette réactivité n'est pas spécifique de ce syndrome et peut s'observer au cours du phénomène de Raynaud primitif isolé (amenant à surveiller de manière régulière les patients, pour ne pas méconnaître l'émergence dans le futur d'un syndrome de CREST). Ils sont rencontrés aussi dans le syndrome de Reynolds (CBP + sclérodémie) et au cours de diverses autres pathologies auto-immunes (LES, Gougerot-Sjögren, GVH chronique). [21].



**Photo 14 : Aspect IFI des anticorps anti-centromères**

**Fluorescence cytoplasmique :**

Bien que la fluorescence nucléaire soit la plus fréquemment observée au cours de la recherche d'AAN, on observe parfois une fluorescence cytoplasmique associée ou non aux AAN. Elle peut correspondre à la présence d'anticorps anticytosquelette (actine, vimentine, tubuline), anti-organites intracytoplasmiques (mitochondries, ribosomes, appareil de golgi, somes, centrioles/ centrosomes) ou anti-cytosol (aminoacyl-ARNt-synthétases, SRP) [15].

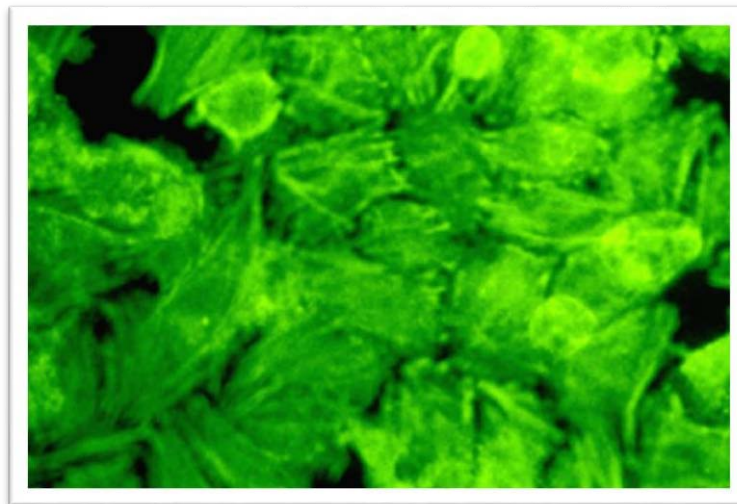
L'aspect observé en immunofluorescence indirecte sera le reflet de la distribution cellulaire de ces autoantigènes qui peuvent diffuser librement dans le cytosol ou au contraire être inféodés à une structure ou un organite particulier. Cet aspect apportera donc une orientation ou une probabilité, mais non la preuve de la spécificité d'un autoanticorps pour tel ou tel antigène. Nombre de ces autoanticorps seront d'ailleurs désignés par référence à l'organite ou la structure macromoléculaire dont fait partie sa cible plutôt que par la molécule elle-même. Dès l'instant où une fluorescence cytoplasmique est considérée comme significative, ne relevant pas du simple bruit de fond, son interprétation tiendra compte d'une part de son titre et d'autre part de son aspect [16].

**a. Les autoanticorps donnant une fluorescence filamenteuse :**

Une première idée de la nature de la cible des Ac anti-cytoplasmiques est donnée par l'aspect et la localisation de la fluorescence dans la cellule. Les Ac anticytosquelette apparaissent sous forme d'une fluorescence cytoplasmique filamenteuse. Les images observées dépendent cependant des conditions de culture et des fixateurs, en particulier pour les Ac antimicrofilaments [16].

*Les Ac anti-F-actine :*

Les autoanticorps dirigés contre les filaments d'actine, définis à la fois sur cellules Hep-2 et sur coupes d'organes (photo-15) et avec un titre significatif, sont très évocateurs d'hépatite auto-immune de type I et y sont associés dans environ 85 % des cas. Ils sont principalement de classe IgG. Ils sont cependant aussi rencontrés au cours de la cholangite biliaire primitive ou lors des formes chevauchantes entre les deux entités. Les IgM peuvent également prédominer, à faible titre, et peuvent accompagner certaines hépatites, notamment médicamenteuses, montrant quelques similitudes avec l'hépatite auto-immune de type I [22].

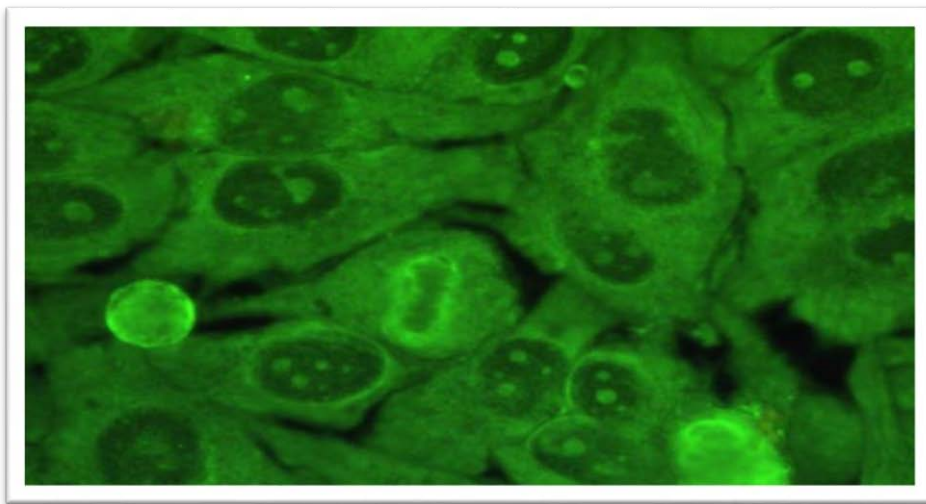


**Photo 15 :** Aspect des Ac anti-F-actine sur celles Hep2  
b. Les autoanticorps donnant une fluorescence granulaire :

*Anticorps anti-ribosome :*

La présence d'autoanticorps dirigés contre l'appareil de Golgi (photo-16) avec un titre élevé, supérieur ou égal au 1/5000 ème est presque toujours indicatrice d'une maladie

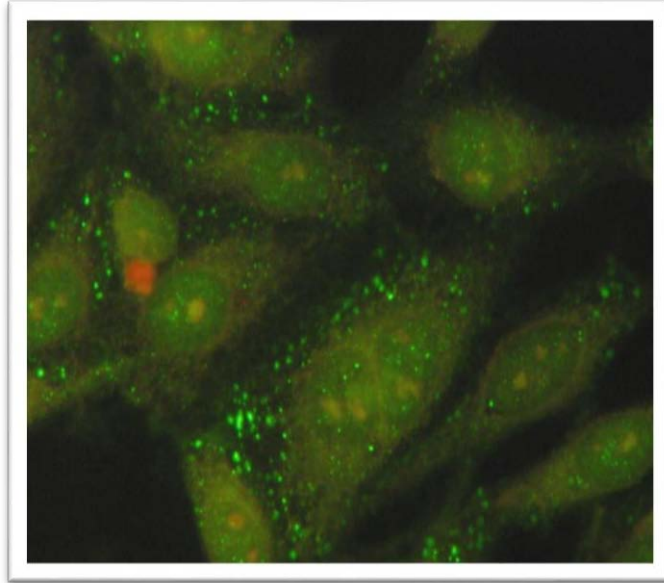
systémique, en particulier d'un syndrome de Gougerot-Sjögren ou d'une polyarthrite rhumatoïde (le plus souvent un peu inhabituelle). Lorsque leur titre est moins élevé, la notion de néoplasie, de lymphopathies, de tumeurs solides diverses et/ou la présence d'une atteinte hépatique ou parfois rénale sont fréquentes. Des titres faibles et transitoires enfin peuvent faire envisager une infection virale. Ceci a été bien décrit dans un modèle animal. Les autoanticorps dirigés contre l'appareil de Golgi ont pour cibles toute une famille de molécules auxquelles a été attribué en général le terme de golgines. Mais il ne semble pas actuellement que l'on puisse mettre l'une ou l'autre d'entre elles en relation avec un sous-groupe particulier de malades [23].



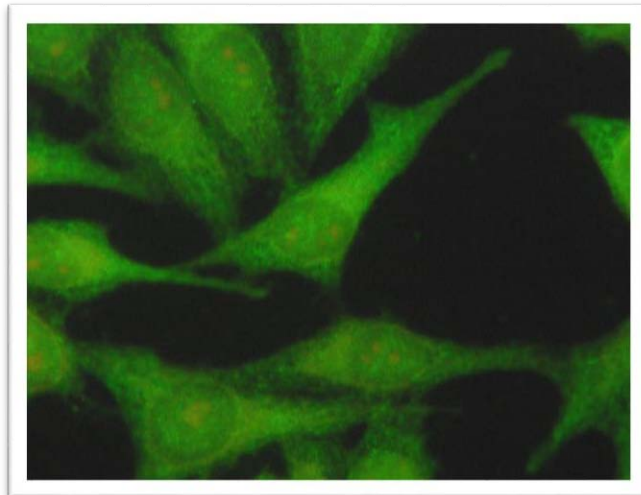
**Photo 16** : Aspect des anticorps anti-ribosome sur cellules Hep2 :

*Les anticorps anti- aminoacyl-ARNt synthétases :*

Les anticorps anti-aminoacyl-ARNt synthétases sont dirigés contre des cibles libres dans le cytoplasme, sont spécifiques chacun d'une seule synthétase et sont capables d'en bloquer l'activité. On distingue essentiellement les anticorps anti-Jo1 (PL-1), anti-PL 7 et anti-PL12 (photos-17-18). Ces autoanticorps sont très évocateurs d'une forme particulière de polymyosite de l'adulte, le syndrome des anti-aminoacyl-ARNt synthétases, dans lequel sont associés à la myosite avec une grande fréquence, une atteinte pulmonaire interstitielle, des atteintes potyarticulaires, un phénomène de Raynaud et des mains de mécanicien [22]



**Photo 17 :** Anticorps anti-JO1 sur cellules Hep-2.



**Photo 18 :** Anticorps anti-PL7 sur cellules Hep-2

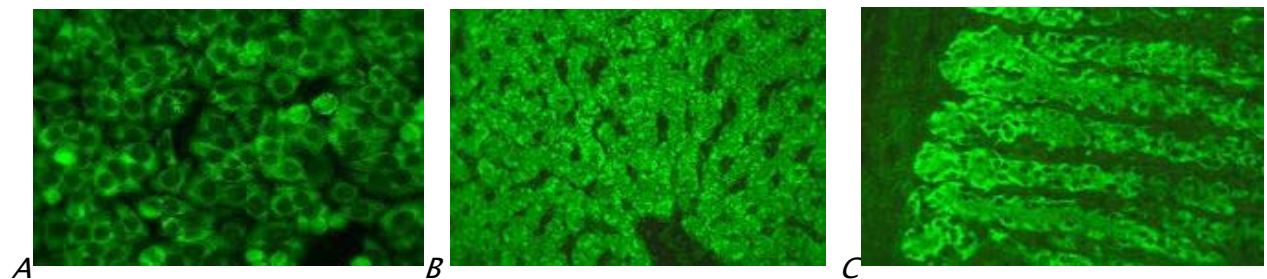
*Les anticorps anti-Jo-1 :*

Un anticorps anti-Jo-1, qui catalyse la liaison de l'histidine à son ARN de transfert, est de loin le plus fréquent puisqu'il représente 80 % des autoanticorps dirigés contre les aminoacyl-ARNt synthétases décelés. C'est le seul qui soit actuellement assez facilement identifiable en pratique de routine même si des kits commerciaux commencent à proposer la possibilité d'identifier d'autres spécificités. Il a été individualisé lors de réactions de précipitation à la recherche d'autoanticorps dirigés contre les antigènes nucléaires solubles. Les IgG1 prédominent

au sein des anticorps anti-Jo-1 qui fluctuent en fonction de l'activité de la maladie. Ils ont également été retrouvés dans des polymyosites induites par la D-penicillamine. Des autoanticorps dirigés contre la protéine appelée Ro52 coexistent fréquemment sans qu'il y ait pour autant de réaction croisée entre les deux. [25]

#### *Les anticorps anti-SRP*

La fluorescence associée aux Ac anti-SRP est de type homogène en raison de la densité des grains mais elle n'est pas aussi pâteuse que celle donnée par les Ac anti-ribosomes, et le nucléole n'est jamais marqué (photo-19). Cet aspect évoque la présence d'autoanticorps dirigés contre la SRP, particule reconnaissant le peptide signal et conduisant ainsi au passage de la protéine en cours de synthèse dans le réticulum endoplasmique. La poursuite de l'analyse en immunofluorescence indirecte sur coupes d'organe de rat permet d'observer un marquage comparable à celui donné par les anticorps anti-ribosomes. Ces rares autoanticorps sont très évocateurs d'une forme particulière de myopathie nécrosante peu inflammatoire de l'adulte qui touche classiquement les femmes [26].

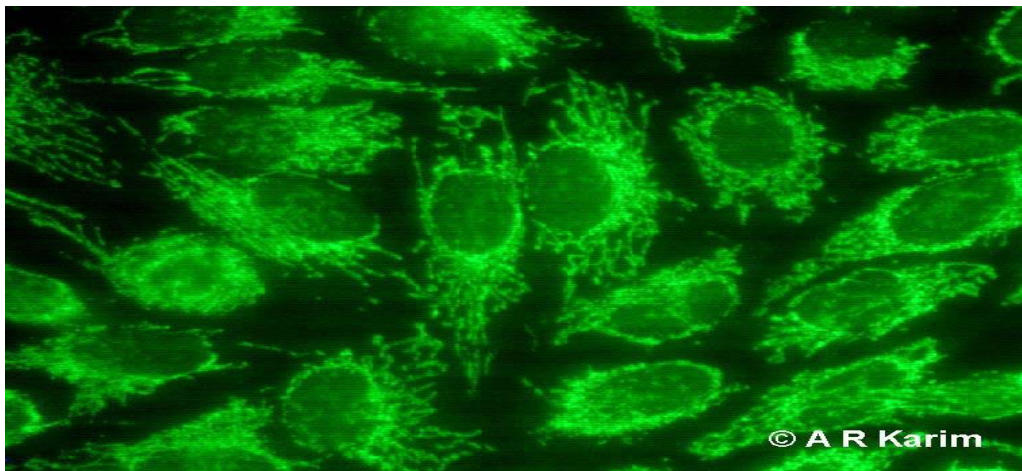


**Photo 19** : Aspect des anticorps anti-SRP sur cellules Hep2, (A), sur coupe de foie (B), sur coupe d'estomac (C)

**c. Fluorescence granulo-filamenteuse**

*Les autoanticorps antimitochondries de type M2 :*

Les anticorps antimitochondries de type M2 (photo-20) sont très évocateurs de la cholangite biliaire primitive (CBP) dans laquelle ils sont présents dans environ 95 % des cas. Ils sont quasiment absents chez les sujets sains ou atteints de maladies non auto-immunes. Ils apparaissent précocement au cours de la maladie, qu'ils peuvent précéder, et leur titre reste en principe stable. Ils peuvent également être présents lors de l'hépatite auto-immune de type I ou lors d'affections associées à une CBP telles que le syndrome CREST, le syndrome de Gougerot-Sjögren ou la thyroïdite d'Hashimoto. Ils peuvent donc coexister fréquemment avec les autres stigmates immunologiques de la CBP, que sont l'élévation polyclonale des IgM ou la présence d'autoanticorps dirigés contre la protéine gp210 des pores nucléaires ou contre la protéine sp100 des structures nucléaires en dots, ainsi qu'avec les autoanticorps anti-SSA et anti-SSB du syndrome de Sjögren et les anticorps anti centromères du syndrome CREST [24].

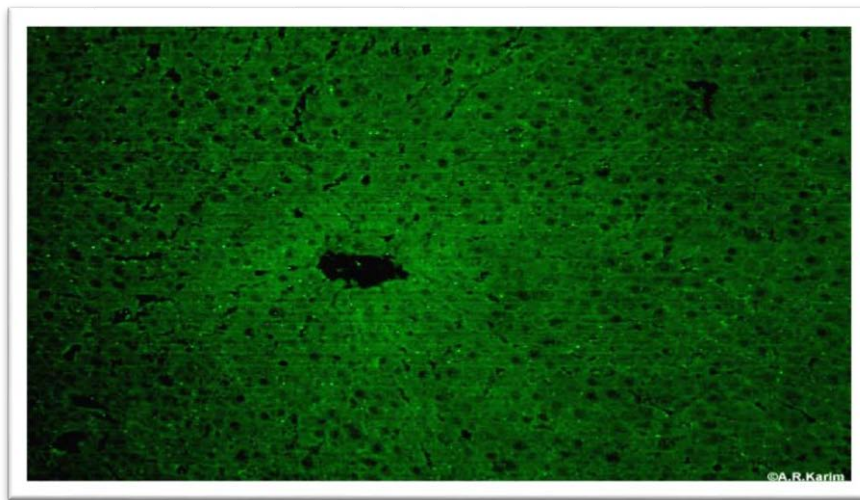


**Photo 20 :** Aspect des anticorps antimitochondries M2 sur cellules HEp2

**d. Fluorescence homogène cytoplasmique**

*Les anticorps anti-SLA :*

Les Ac anti-SLA (soluble liver antigens) sont retrouvés au cours des HAI-1 chez l'adulte et l'enfant avec une fréquence variant de 10 à 30% selon les auteurs, avec une spécificité supérieure à 99%. Ils sont également présents dans 15 à 20% des hépatites cryptogéniques qu'ils permettent de reclasser en HAI-1, et dans 20% des formes mixtes associant CBP et HAI. Les Ac anti-SLA ont été décrits comme marqueurs de mauvais pronostic (rémission plus difficile, plus de transplantation hépatique et de décès). Ces Ac sont également décrits dans les récives d'HAI après transplantation hépatique et dans les HAI de novo mais les effectifs étudiés restent faibles [17].

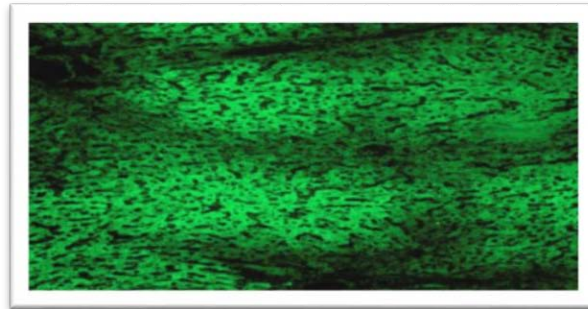


**Photo 21 : Aspect des autoanticorps anti-SLA**

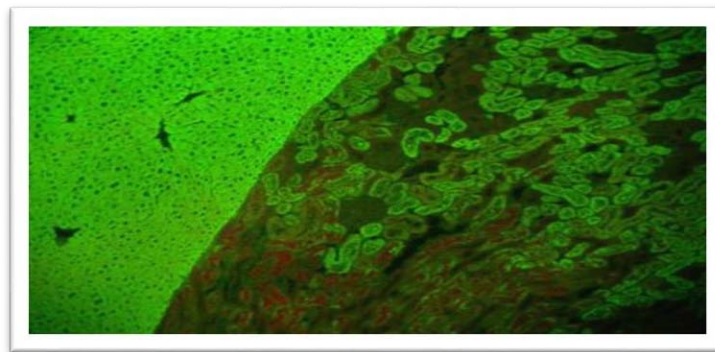
*Les anticorps anti-LC1 et anti-LKM1 :*

Ces Ac sont mis en évidence par IFI sur foie de rat (photo-22-23) mais leur détection peut être difficile en cas d'association aux Ac anti-LKM1. Il existe de nombreuses techniques de confirmation (dot blot, ELISA). La fréquence des Ac anti-LC1 dans l'HAI-2 varie de 30 à 50 % selon les équipes lorsque l'antigène utilisé est un extrait du cytosol hépatique, et peut aller jusqu'à 70% avec la protéine recombinante. Bien que principalement associés aux Ac anti-LKM1, 10 % des HAI-2 présentent un Ac anti-LC1 isolé, et ces patients ont moins de maladies auto-immunes associées. Leur spécificité n'est pas parfaite, ils peuvent être détectés dans d'autres affections auto-immunes du foie, en cas d'HVC ou de porphyrie cutanée tardive. Leur titre varie selon le stade de la maladie

et le traitement utilisé. Leur présence est généralement associée à des formes histologiques sévères d'HAI [20].



**Photo 22** : Aspect des anticorps anti-LC1 à l'IFI



**Photo 23** : Aspect des anticorps anti-KLM1 à l'IFI

Au total, l'IFI sur cellules Hep2 permet de révéler différents types de marquage pouvant concerner le noyau, la membrane nucléaire, le cytoplasme, et l'appareil mitotique. Ceci est lié à une grande variété d'antigènes ciblés par différentes spécificités d'autoanticorps associés à diverses maladies auto-immunes (tableau XIII) [58]. Celle-ci peut être associée à la présence d'autoanticorps spécifiques connus, reconnaissant des structures antigéniques bien définies, et témoins alors de pathologies auto-immunes particulières [20].

**Tableau XIII : Synthèse des différents aspects de fluorescence des anticorps antinucléaires sur cellules HEp2, avec leurs cibles antigéniques et pathologies associées**

Aspect de fluorescence sur cellules HEp2		Antigènes	Associations cliniques
Nucléaire	Homogène	ADNn, Histone, nucléosome(chromatine)	Lupus
	Homogène et membrane nucléaire	ADNn	Lupus
	Membrane nucléaire linéaire	Lamine	Hépatites auto-immunes, lupus
	Membrane nucléaire ponctuée	Glycoprotéines des pores nucléaires	Cholangite biliaire primitive (gp210) Polymyosite
	Mouchetée granulaire très dense (mitoses-)	Mi-2	Dermatomyosite
	Mouchetée grains épais, matrice	Protéines de la matrice nucléaire snRNP	Connectivite mixte ou syndrome de Sharp Lupus Rhumatismes chroniques
	Mouchetée gros grains	U1-snRNP (ou Sm)	Connectivite mixte Lupus
	Mouchetée grains fins	SSA/SSB ARN polymérase II et III	LED, lupus cutané subaigu, Sjögren Sclérodémie
	Mouchetée grains fins nucléaires et nucléolaires	ADP-ribose polymérase	Sjögren, Tumeurs pulmonaires Hépatopathies et polyneuropathies
	Mouchetée grains très fins	Scl-70 (topoisomérase I)	Sclérodémie systémique
	Dots nucléaires 2-6	P80-coiline+snRNP	Cholangite biliaire primitive, hépatites
	Dots nucléaires multiples	Protéine Sp100	Cholangite biliaire primitive, Sjögren, rarement lupus
Nucléolaire	Homogène (+ noyau)	PMscl	Polymyosite-sclérodémie
	Homogène	Ku, ADP-ribose polymérase	Polymyosite-sclérodémie Lupus, Sjögren, autres
	Granulaire	U3-snRNP 5 % Fibrillarine	Sclérodémie systémique
	Moucheté	ARN Pol I 30 %	Sclérodémie systémique
	Moucheté avec dots mitotiques	NOR-90	Sclérodémie avec Raynaud
	Dots nucléaires et mitotiques	Centromères (CENP-A/B)	Syndrome CREST
Liée au cycle cellulaire	Nucléaire pléiomorphique	PCNA 1-3 %	Lupus
	2 dots	Centrioles centrosome	Rhumatismes chroniques Infections virales

**Tableau XIII : Synthèse des différents aspects de fluorescence des anticorps antinucléaires sur cellules HEp2, avec leurs cibles antigéniques et pathologies associées «suite»**

Aspect de fluorescence sur cellules HEp2		Antigènes	Associations cliniques
Fuseau mitotique	Avec renforcement polaire	MSA-1 (NUMA I)	Lupus Sjögren CREST Connectivite mixte Polyarthrite ou non spécifique, Sclérodémie systémique
	Corps intermédiaires	MSA-2 (Midbody)	Raynaud Ou non spécifique
	Grains périchromatiniens	MSA-3	Cancers
	Tubules du fuseau ...	Tubuline (NUMA II)	Maladies inflammatoires chroniques infectieuses, auto-immunes
Cytoplasmique	Grains fins périnucléaires	Jo-1 (histidyl-tRNA synthétase) ou autres anti-synthétase (PL7, PL12)	Polymyosite, Dermatomyosite
	Grains denses à renforcement périnucléaire	Ribosomes (phosphoprotéines P)	Lupus, neurolupus
	Grains fins isolés	SRP ( <i>signal recognition particle</i> )	Polymyosites
	Grains denses	, plus marqués à un pôle Réticulum endoplasmique (P450)	Hépatites médicamenteuses
	Vacuolaire, grains de tailles	Lysosomes	Rarement lupus
	Périnucléaire, à côté du noyau	Golgi	Rhumatismes chroniques Infections virales, Lupus, Sjögren Syndromes lymphoprolifératifs
	Réseau granulofilamenteux	Mitochondries M2	Cholangite biliaire primitive, Sclérodémie Connectivite mixte
	Fines fibres en faisceaux traversant le cytoplasme	Muscle lisse de type actine	Hépatite AI type I, Syndrome de chevauchement HAI/CBP
	Courts câbles entre membranes nucléaire et plasmique	Microfilaments (vinculine)	Maladies AI chroniques, non spécifique
	Cytosquelette	Réseau complexe de fines fibres, réticulé et enroulé	Filaments intermédiaires (vimentine)
Réseau à renforcement périnucléaire et prolongements cytoplasmiques		Filaments intermédiaires (cytokératine)	Polyarthrite rhumatoïde Connectivite mixte, Non spécifique
Fin treillis		Desmine	?
Fibres tendues entre noyau et cytoplasme		Tropomyosine	Non spécifique

## II. Discussion de nos résultats

### 1. Données sociodémographiques :

#### L'âge :

La moyenne d'âge dans notre étude (52,5 ans) est en accord avec plusieurs séries de la littérature qui rapportent des moyennes comprises entre 38,5 et 55 ans, elle est plus proche de celle rapportée par une étude italienne (Tableau XIV).

**Tableau XIV : Moyenne d'âge des patients selon les différentes séries**

Série (année)	Nombre de cas	Pays	Age Moyen
Feki et al (2012) [27]	90	Tunisie	44
Satoh et al (2012) [29]	4754	USA	53
Teresa Carbone (2018) [32]	3175	Italie	52.6
Akmatov et al (2017) [31]	1199	Allemagne	49
Carlo Selmi et al (2015) [28]	15907	Italie	42
<b>Notre étude</b>	<b>128</b>	<b>Maroc</b>	<b>52.20</b>

#### Le sexe : \_\_\_\_\_

La prédominance féminine constatée dans notre série est retrouvée dans la quasi-totalité des séries. Le sex-ratio Femme/Homme varie de 1,1 à 4.1. Celui de notre étude étant le plus élevé (Tableau XV).

**Tableau XV : Sex-ratio selon les différentes études**

Série d'étude	Nombre de cas	Pays	Sex-ratio
Feki et al (2012) [27]	90	Tunisie	4
Satoh et al (2012) [29]	4754	USA	1.3
Teresa Carbone (2018) [32]	3175	Italie	2.8
Akmatov et al (2017) [31]	1199	Allemagne	1.2
Carlo Selmi et al (2015) [28]	2690	Italie	1.1
<b>Notre étude</b>	<b>128</b>	<b>Maroc</b>	<b>8.8</b>

## **2. Circonstances motivant la demande du bilan immunologique :**

Dans notre série, les patients ayant un marquage cytoplasmique positif identifié par la technique d'immunofluorescence indirecte, ont été admis essentiellement pour une recherche d'ANA devant la suspicion de différentes maladies auto-immunes dont :

43.5% pour CBP, 5.74% pour HAI, 14.1% pour CBP et /ou HAI, 19.5% pour LES, 3.1% pour SG, 2.3% pour sclérodémie, ce qui rejoint les motivations de Senecal, Koh et French [35] [34] [33].

## **3. Paramètres immunologiques :**

La caractérisation des autoanticorps implique un examen de dépistage, qui est la technique d'immunofluorescence indirecte, suivie de méthodes ayant la capacité de caractériser précisément le ou les antigène(s) cibles de ces autoanticorps. Il s'agit de techniques immunoenzymatiques de type ELISA ou d'Immunodot, et plus rarement de l'immunoempreinte (ou Western Blot), de la chimiluminescence, de la fluorométrie ou de la technologie multiplex.

Dans notre série, la recherche d'AAN et la mise en évidence de l'aspect cytoplasmique ont été objectivés par la technique d'IFI. Une immunofluorescence cytoplasmique isolée est significativement observée chez plus que 57 % des cas (n=73), alors que 42.5% des cas (n=55) ont une fluorescence nucléaire associée, ce qui correspond aux données énoncées dans les séries de Graig et al [33], et French et al [36] (Tableau XVI). Il est donc important de ne pas négliger la fluorescence cytoplasmique même en l'absence de marquage nucléaire, car cela permettrait de mettre en évidence plusieurs spécificités d'autoanticorps.

**Tableau XVI : Fréquence de l'immunofluorescence cytoplasmique au cours de la recherche d'AAN par IFI selon les séries**

Série	Nombre de cas	Immunofluorescence cytoplasmique	
		N	%
Craig et al (2006) [36]	200	85	42.5
French et al (1994) [33]	265	155	61
Koh et al (1995) [34]	1173	75	6.4
<b>Notre étude</b>	<b>128</b>	<b>73</b>	<b>57</b>

**Les aspects de marquage cytoplasmique :**

Nos résultats montrent que la fluorescence cytoplasmique est loin d'être exceptionnelle lors de la recherche d'anticorps antinucléaires par immunofluorescence indirecte. Nous avons identifié quatre types de marquage cytoplasmique, dont certains bien définis comme ceux caractéristiques de l'AAM2 (aspect granulo-filamenteux, 14 cas) et anticytosquelettiques (aspect filamenteux, 9 cas). Cependant, l'aspect le plus communément retrouvé était de type moucheté grossier ou fin et diffus (104 cas), noté chez presque la moitié des cas ayant une fluorescence cytoplasmique.

Ces constatations sont conformes aux résultats d'autres études qui ont montré que des autoanticorps se lient couramment aux fibres filamenteuses et aux structures du cytoplasme des fibroblastes au cours de certaines maladies auto-immunes. [58]

En utilisant une méthode d'IFI, French et al ont décrit la plupart des aspects de fluorescence cytoplasmiques retrouvés dans notre série. Sénécal et al ont rapporté une haute fréquence des aspects à filaments intermédiaires (une des trois classes du cytosquelette), ainsi que Craig et al qui ont relaté un pourcentage important d'aspect granulo-filamenteux [36]. Une étude anglaise [34], a démontré par contre la dominance de l'aspect moucheté diffus chez la majorité des patients, ce qui concorde avec les résultats de notre étude (Tableau XVI).

**Tableau XVI : Les différents aspects de fluorescence cytoplasmique retrouvée selon les études**

Aspects cytoplasmiques retrouvés	French et al Australie [33]		Senecal et al Canada [35]		Craig et al Amérique [36]		Koh et al Angleterre [34]		Notre étude	
	N	%	N	%	N	%	N	%	N	%
Moucheté diffuse (grossier /fine)	29	18.7	-	-	-	-	50	66	104	81.4
Granulofilamenteux	14	9.03	55	53.3	30	15	9	12	14	10.9
Filamenteux	20	12.9	8	7.7	-	-	9	12	9	7
Granulaire	-	-	-	-	-	-	-	-	1	0.7

**Les aspects de marquage nucléaire :**

Dans notre étude, nous avons pu détecter un nombre important (42.5%) d'anticorps anti-nucléaires s'associant à une immunofluorescence cytoplasmique. Les marquages nucléaires les plus rencontrés étaient de type moucheté dans 15,6% des cas (n=20), homogène dans 2,3% des cas (n=3), et mixte (homogène-moucheté) dans 25,78% des cas (n=33). Nous avons également constaté que ces aspects nucléaires avaient tendance à être associés au marquage cytoplasmique moucheté grossier ou fin et diffus, ce qui concorde avec les résultats de Craig et al et Koh et al.

**Les spécificités auto-anticorps retrouvées :**

Les spécificités anti-ENA étaient détectées dans 42,5% des cas de notre série (n=54), parmi lesquels des Ac anti-SSA ont été détectés dans 17.9% des cas, des Ac anti-nucléosome dans 14.1% des cas, des Ac anti-DNA dans 10.9%, des anti-Sm et anti-Sm/Rnp dans 10.2%, des anti-SSB dans 7.03%, des anti-PL12 dans 3.9%, des anti-Jo1 et des anti-histone chez 3.1%. En revanche, les Ac anti-SRP, les anti-PMScl, les anti-Scl70, les anti-PL7, les anti-CNP-B, et les anti-ribosomes étaient moins fréquents.

Ces résultats sont supérieurs à ceux de l'étude de Craig et al [36], où la réactivité de l'ENA était détectée dans seulement 8,5% des cas (n=17), correspondant à des Ac anti-histones, présents chez huit cas, des anti-Jo-1 chez cinq cas, des anti-SSB chez cinq cas, des anti-Scl70 chez deux cas, des anti-SSA et des anti-Sm chez un cas. Dans l'étude de Koh et al [34], ont été

détectés des Ac anti-ENA dans 10 cas, avec cinq cas d'Ac anti-Ro (SS-A), quatre cas d'Ac anti-Jo-1 et un cas d'Ac anti-ribonucléoprotéines (RNP).

**Spécificité des anticorps anti-tissus retrouvés :**

Les anticorps anti-tissus étaient les plus fréquemment retrouvés parmi les cas de marquage cytoplasmique, avec prédominance des AAM2 (60.9%), puis les anticorps anti-protéine SP100 (19.5%), les anti-GP210 (17.1%), les anti-ASMA (8.5%), les anti-anti-LC1 (1.5%), et les antiSLA, identifiés chez un seul cas, ce qui est comparable aux résultats des études réalisées en Amérique [36] et en Angleterre [34], qui ont objectivé une présence essentielle des Ac antimitochondries et anti-muscles lisses.

#### **4. Autoanticorps et données cliniques des patients**

**Les aspects de fluorescence retrouvés et pathologies suspectées**

Chez les patients ayant une suspicion d'hépatopathie auto-immune dans notre série, l'aspect cytoplasmique moucheté grossier /fin et diffus a été noté avec une fréquence estimée entre 70% à 80%. Elle est estimée également entre 5% à 14% pour l'aspect granulofilamenteux et à presque 16% pour l'aspect filamenteux. Ainsi qu'un marquage nucléaire a été également décrit chez ces patients où l'aspect mixte (homogène-moucheté) était le plus fréquent, avec 22% des cas. Ceci correspond aux données rapportées par certains auteurs (Craig et al /Koh et al). Quant aux patients se présentant pour suspicion de LES, de polymyosites, de sclérodémie, et de syndrome de Gougerot Sjögren, hormis le marquage nucléaire de type homogène et/ou moucheté décrit chez la totalité d'entre eux, l'aspect cytoplasmique moucheté de type grossier/fin et diffus a été constaté avec une fréquence variant de 50% à 90%, ce qui rejoint les données décrits par une série anglaise qui a noté la présence d'un marquage cytoplasmique type moucheté grossier/fin et diffus chez plus de 66% des patients atteints de polymyosites, de Lupus, de Gougerot Sjögren et de sclérodémie [34].

**Anticorps et pathologies suspectées :**

La CBP est caractérisée sur le plan immunologique par la présence des AC anti-M2 à un taux significatif. Leur positivité est rapportée de façon constante dans les différentes études (Tableau XVI), suivie par les AAN avec ou sans la présence d'AC anti-Gp210 et anti-Sp100. La fréquence des AC anti-M2 dans notre série, estimée à 91.3%, semble comparable aux résultats d'autres études (Tableau XVII). Celle des autres AC, notamment les AC anti-Gp210 (22.4%), anti-Sp100 (31%) et AAN est beaucoup plus faible, mais proche de celle décrite par la littérature.

**Tableau XVII : Autoanticorps associés à la cholangite biliaire primitive selon les différentes études**

Série	Benzerjeb B [38]	Loukil H [39]	Notre série
Autoanticorps			
Anti-M2	90.6	100	91.3
Anti-SP100	15.6	-	31
Anti-GP210	12.5	-	22.4
AAN	15.6	-	3.4

L'HAI est généralement caractérisée par la présence d'AC anti F-actine, anti-LKM1, anti-LC1, et anti-SLA, comme marqueurs immunologiques spécifiques, associés ou non à des AAN (Tableau XVIII). Dans notre série, les AC anti F-actine étaient détectés avec une fréquence estimée à 71.4% et les AC anti-SLA avec une fréquence à 14.2%, étaient aussi proches des résultats rapportés par plusieurs études. Les AAN par contre étaient positifs chez 14.3% des cas, ce qui est relativement faible par rapport aux séries de la littérature (Tableau XVIII).

Les cas ayant une suspicion de syndrome de chevauchement CBP-HAI dans notre série sont caractérisés par l'association d'un marqueur immunologique de la CBP, essentiellement les AC anti-M2, et un autre de l'HAI, en particulier les AC anti-F-actine. Ce résultat est comparable aux données de la littérature (Tableau XIX). En revanche, les AAN étaient moins fréquemment observés chez les patients de notre étude, contrairement à d'autres séries de la littérature qui rapportent une fréquence considérable de positivité d'AAN (Tableau XIX). Par ailleurs, dans notre série les Ac anti-SP100 et anti-GP210 ont été retrouvés chez 4 patients pour chacun.

**Tableau XVIII : Autoanticorps associés à l'hépatite auto-immune selon les différentes séries**

Série	Oettinger R, [40]	Benzerjeb B [38]	Notre série
Anti-F-actine	73	43	71.4
Anti-SLA	-	-	14.2
AAN	24.6	29	14.3

**Tableau XIX : Les anticorps spécifiques d'hépatopathies auto-immunes et AAN selon les études**

Série	Chazouillère O [41]	Serghini M [42]	Notre série
Anti-M2	80	100	83.3
Anti-SP100	-	-	33.3
Anti-GP210	-	-	38.8
Anti-F-actin	70	-	11.1
Anti-LC1	-	-	5.5
AAN	50	44	5.5

Les ANA constituent un marqueur biologique quasi-constant du LES. Dans notre étude, ils sont retrouvés chez la totalité des patients. En effet, leur fréquence varie entre 85 et 100 % suivant les séries à travers le monde (Tableau XX). Les Ac anti-DNA, dont la spécificité pour le LES est mieux définie, voient leur fréquence varier également selon les séries, de 33,2 à 88,7% [Ref]. Dans notre série, ces Ac étaient présents chez 45,8% des patients. Ce taux rejoint celui décrit dans la littérature. L'Ac anti-SSA était détecté chez 45,2% des patients de notre série, ce qui est également en accord avec des séries sénégalaises [43] et latino-américaines [44]. Les Ac anti-Sm et anti-RNP sont retrouvés respectivement dans 50% et 54.2% des cas dans notre série. Ce résultat est comparable à celui rapporté par plusieurs études (tableau XX). Les Ac anti-SSB étaient notés chez 12,3% de nos patients. Leur fréquence est en dessous de celle rapportée chez une population sénégalaise [43] et afro-latino-américaine [44]. Les Ac anti-nucléosome étaient notés dans 38.5% des cas. Ce résultat est en accord avec celui des études de Burlingane et Min DJ [53] [54], qui rapportent une fréquence variant de 56 à 88 %. Le taux d'Ac anti-histones de notre série (8.3%), est beaucoup plus faible par rapport à celui observé dans la série de Hoffman et al (28.5%) [52].

**Tableau XX : Fréquence des autoanticorps associés au lupus érythémateux systémique selon les séries**

AAN	Diallo M et al [43]	Pons-Estel BA et al [44]		Notre série
		Métis	Blanc	
Anti-DNA	62.5	74.6	67.2	<b>45.8</b>
Anti-SSA	54.8	46.5	50.2	<b>45.2</b>
Anti-Sm	69.9	48.8	47.1	<b>50</b>
Anti-Rnp	68.7	54.2	49.3	<b>54.2</b>
Anti-SSB	36.3	31.4	26.1	<b>12.3</b>

Les Ac anti-Jo1, dont la spécificité pour les DPM est mieux définie voient leur fréquence varier également selon les séries, de 15% à 23.5% (tableau XXI). Dans notre série, ces Ac étaient présents chez 30.8% des patients. Ce taux est modérément élevé par rapport à celui décrit dans des séries européennes. Les Ac anti-PL7 sont retrouvés chez 7.7% des cas de notre étude. Ce constat est en accord avec plusieurs séries, notamment, le taux de la spécificité PL7 qui rejoint celui décrit au Canada [45] et en Hongrie [46]. L'Ac anti-SSA était détecté chez 38.5% des patients de notre série. Un taux nettement plus élevé par rapport à celui rapporté dans la série canadienne. Quant aux autres séries, ce taux était significativement moins important. L'Ac anti-SSB, par contre, est moins étudié dans les séries mondiales, avec des taux variables. Il est retrouvé chez 7.7 % des patients dans notre série, taux comparable à la série canadienne de Troyanov et al [46].

Les autres AAM, notamment l'anti-PMScl et l'anti-U1RNP étaient moins fréquents dans notre étude, avec des taux de 11,5 et 8,3 % respectivement, ce qui reste relativement en accord avec la série canadienne [45]. Ils sont retrouvés à des taux variables selon les études cette différence pouvant s'expliquer par la nature des méthodes de détection utilisées.

En revanche, les Ac anti-PL12 et anti-SRP sont détectés chez 30% et 23% des cas respectivement chez nos patients. Ce qui est proche de la série d'Allenbach et al [47] qui ont décrit les Ac anti-PL12 chez 17% des patients ayant une myopathie nécrosante auto-immune, ainsi que les Ac anti-SRP dont le taux a été estimé à 1% par Koenig et al [49] dans cette maladie.

**Tableau XXI : Fréquence des anticorps spécifiques ou associés aux myopathies inflammatoires selon les séries de la littérature**

Série	Fernandez et al [48]	Vansca et al [45]	Traynov et al [46]	Notre série
Anti-Jo1	23.5	18.3	15	30.8
Anti-PL7	1	1.7	5	7.7
Anti-SSA	23.5	13	31	38.5
Anti-SSB	9.8	7.6	14	7.7
Anti-PMScI	9.8	3	15	15.4
Anti-Rnp	13.7	4.1	9	7.7

Selon des séries de la littérature relatives à la sclérodémie, les Ac anti-PMScI ont été mis en évidence par Tager et al [50] chez 42% des patients sclérodémiques. Le taux de ces auto-Ac dans notre étude est proche, et est estimé à 33.3%. Quant aux Ac anti-SSA et anti-SSB, ils étaient présents dans 33.3% des cas, ce qui concorde avec une série canadienne [49] et une autre espagnole [51].

**Tableau XXII : Fréquence des anticorps anti-PMScI, anti-SSA, anti-SSB au cours de la sclérodémie selon les séries**

Série	Koenig et al [49]	Sanchez Montala et al [51]	Tager et al [50]	Notre série
Anti-PMScI	7.5	-	42	33.3
Anti-SSA	22	35.6	18	33.3
Anti-SSB	2.6	-	10	33.3

Les anticorps anti-SSA/Ro et anti-SSB/La font partie des Ac anti-antigènes nucléaires solubles les plus fréquemment rencontrés en pratique médicale. Ce sont des marqueurs diagnostiques importants du SGS. Dans une étude d'Ildiko [56], les AC anti-SSA étaient positifs dans 76,9% des cas de SGS. Celle de Martel [55] les avait objectivés dans 48% des cas et a objectivé des AC anti SSB dans 31% des cas de SGS primitif. Dans la série de Friedman et al [57], ces AC ont été retrouvés respectivement dans 94,5% et 54,5% des cas de SGS. Dans notre série, la fréquence des AC anti SSA et des anti-SSB était de 75% chacun (tableau XXIII).

**Tableau XXIII : Fréquence des anticorps anti-SSA et anti-SSB au cours du syndrome de Gougerot Sjögren selon les séries:**

Série	Ildiko et al [56]	Martel et al [55]	Friedman et al [57]	Notre série
Anti-SSA	76.9	48	94.5	75
Anti-SSB	-	31	54.5	75

##### 5. Spécificités anticorps antinucléaires et anti-tissu et aspects à l'IFI

Dans notre série, la présence des anticorps anti-SSA, anti-SSB, anti-Sm, anti-Sm/Rnp et anti-Jo1, traduite par un marquage nucléaire moucheté, était également associée à un marquage cytoplasmique de type moucheté grossier/fin et diffus dans 13% des cas. Ces constatations sont également rapportées par une série anglaise de Koh et al [34], où ces spécificités autoanticorps sont associées à un aspect cytoplasmique moucheté grossier et diffus.

Les Ac anti-nucléosome, anti-DNA et anti-histone étaient caractérisés par un aspect nucléaire mixte de type homogène-moucheté chez 13% et 11.85% respectivement, et également associés au marquage moucheté grossier et diffus chez 31% et 21% des cas. Ce qui est en accord avec ce qui a également été décrit dans la littérature [34].

Une fluorescence cytoplasmique pareille a également été retrouvée chez 10.3%, 7.1% et 5.08% des patients ayant des Ac anti-PL7, anti-PL12 et anti-SRP, associée à un aspect nucléaire moucheté. Dans une étude française de Laurene et al [37], une immunofluorescence nucléaire mouchetée et homogène a été fréquemment rencontrée chez les patients ayant un tableau clinique de myopathie inflammatoire, mais l'aspect cytoplasmique était fréquent également soit en association avec le marquage nucléaire ou de façon isolée [37]. Ce qui explique l'intérêt de la recherche du marquage cytoplasmique, qui serait d'une aide diagnostique importante devant certaines circonstances cliniques.

Les Ac anti-M2 étaient caractérisés par une fluorescence cytoplasmique type granulo-filamenteuse, présente dans 37 cas, soit 100% des cas. Ils étaient associés à un aspect nucléaire mixte chez 41% des cas. Selon les données de la littérature, l'aspect granulo-filamenteux est décrit comme un aspect caractéristique des anticorps anti-M2 permettant d'évoquer particulièrement une CBP [36].

L'Ac anti-F-actine était associé à un aspect cytoplasmique moucheté grossier chez 5 cas, dont un cas avait un marquage cytoplasmique de type filamenteux. Trois de ces patients avaient un aspect nucléaire moucheté associé. Ce qui correspond aux données décrit par la littérature [34]

D'autres anticorps anti-tissus étaient également observés chez nos patients :

- L'anti-LC1 et l'anti-SLA, qui étaient associés à l'aspect nucléaire moucheté et un aspect cytoplasmique moucheté grossier et diffus (2 cas).
- L'anti-GP210 et l'anti-SP100 étaient associés à l'aspect nucléaire mixte et aspect cytoplasmique moucheté grossier et diffus ainsi qu'à l'aspect cytoplasmique filamenteux chez 50% des cas.

Au total, les résultats de notre étude ont montré que l'analyse des aspects cytoplasmiques d'anticorps antinucléaires et leur identification ont permis de retenir le diagnostic de la cholangite biliaire primitive dans 61.7% des cas, le lupus érythémateux systémique chez 15.6% cas, de la dermatomyosite et polymyosite dans 7.8% des cas et l'hépatite auto-immune dans 5.5% des cas, le syndrome de chevauchement CBP-HAI dans 5.4% des cas (7 cas).

D'autre part, l'association du marquage nucléaire et cytoplasmique a permis de mettre en évidence des maladies auto-immunes isolées ou associées, tels que :

- Le syndrome de Gougerot Sjögren chez 4 cas
- La sclérodermie chez 1 cas.
- La cholangite biliaire associée à une polymyosite chez 1 cas.

### **III. Forces et limites de l'étude :**

Dans les limites des données scientifiques disponibles, notre étude représente la 1<sup>ère</sup> au plan régional et national, qui s'est intéressée à la caractérisation immunologique des aspects de fluorescence cytoplasmique des AAN, un sujet d'actualité en auto-immunité.

Notre étude a permis de réorienter la démarche diagnostique clinique après la découverte d'un aspect cytoplasmique d'AAN pouvant s'associer à certaines MAI non suspectées initialement par le clinicien.

L'étude a permis de dresser le profil immuno-clinique de diverses MAI grâce à un panel large d'auto-Ac dont l'identification a fait appel à des techniques immunologiques conventionnellement utilisées et de performances incontestables.

En revanche, notre étude présenterait quelques écueils. Elle se limite à un aspect transversal et rétrospectif. La taille d'échantillon est relativement faible, ce qui est dû à la rareté relative de la recherche des aspects cytoplasmiques en pratique courante. Ceci a probablement contribué à un manque de puissance statistique dans la comparaison de certains profils immunologiques retrouvés.

Le manque de renseignements cliniques pour certains cas nous a également mis dans la difficulté de classer les étiologies devant lesquelles le médecin prescripteur a demandé un bilan immunologique précis.



*RECOMMANDATIONS*



Le dépistage des AAN ne peut être conçu et validé que par une technique d'IFI sur cellules Hep-2. Bien que ce soit la fluorescence nucléaire qui est principalement visée lors de cette première étape, on observe parfois une fluorescence cytoplasmique qu'il ne faut pas négliger. Elle peut correspondre à la présence d'anticorps anticytosquelette (actine, vimentine, tubuline), anti-organites intracytoplasmiques (mitochondries, ribosomes, appareil de golgi, somes, centrioles/centrosomes) ou anti-cytosol (aminoacyl-ARNt-synthétases, SRP).

Les anticorps anti-ribosomes qui apparaissent sous forme de grains fluorescents fins, très denses, serrés, réalisant presque un aspect homogène du cytoplasme, à des anti-aminoacyl-ARNt-synthétases, sauf les anti-Jo1 (grains minuscules), ou à des anti-SRP qui donnent des images de fluorescence cytoplasmique très proches de celles des anti-ribosomes. Les anti-SSA, en plus de l'aspect typique du noyau, peuvent également être associés à une fluorescence cytoplasmique dense mais d'aspect légèrement différent, car plus granuleuse. Par opposition aux différents éléments précédemment décrits, les anticorps dirigés contre les autres composants du cytoplasme ne donnent pas de fluorescence dense. Les anti-cytosquelettes donnent une fluorescence filamenteuse. Les antimitochondries de type M2 apparaissent sous forme d'un réseau granulofilamenteux à renforcement périnucléaire. Les anti-appareils de golgi sont responsables d'une fluorescence lamellaire en croissant périnucléaire. Dans ces cas, la reconnaissance et l'identification de l'Ac anti-cytoplasmique est d'une importance capitale, qui grâce à la confrontation clinico-biologique, il va en résulter un diagnostic, voire un pronostic.

En cas d'absence d'un marquage nucléaire, le risque est de rendre un résultat négatif (« absence d'anticorps antinucléaires ») sans tenir compte du marquage cytoplasmique. La fluorescence cytoplasmique doit être signalée dès lors qu'elle peut évoquer la présence d'Ac marqueurs d'une pathologie auto-immune. Le rôle du laboratoire est d'autant plus important que les signes cliniques peuvent être incomplets ou non spécifiques (douleurs articulaires, asthénie, pneumopathie interstitielle, douleurs musculaires...). D'ailleurs, le consensus international sur la nomenclature standardisée des ANA 2014-2015 préconise le rendu des aspects cytoplasmiques au même titre que les aspects nucléaires.



*CONCLUSION*



L'exploration systématique et complète d'une fluorescence cytoplasmique objectivée par une l'IFI est très importante, elle permettrait d'aider au diagnostic de nombreuses MAI.

Sur le plan clinique, notre étude rejoint les données de la littérature en ce qui concerne la prédominance féminine, l'âge relativement jeune ainsi que les circonstances motivant la demande d'un bilan immunologique, notamment la recherche d'AAN.

Sur le plan immunologique la recherche d'un aspect cytoplasmique par technique d'IFI a un apport remarquable dans le diagnostic des connectivites dont le profil est riche en autoanticorps spécifiques ou associés. Ces auto-Ac sont souvent corrélés à certain aspect cytoplasmique, même en dehors d'un aspect nucléaire associé, et ont donc donnant plus de valeur dans la démarche diagnostique et la prise en charge.

Les aspects de fluorescence cytoplasmique observés dans notre série étaient majoritairement de type moucheté grossier ou fins et diffus, puis de type granulo-filamenteux et filamenteux.

Nous avons trouvé également une association significative entre l'aspect granulo-filamenteux et la positivité des Ac anti-M2, ainsi qu'entre l'aspect filamenteux et la positivité des Ac anti-F-actine ce qui leur confère une valeur prédictive non négligeable pour le diagnostic de cholangite biliaire primitive pour les 1<sup>ers</sup> et pour l'hépatite auto-immune pour les 2<sup>èmes</sup>. Ces deux entités pathologiques constituent d'ailleurs les pathologies les plus rencontrées dans notre série, en plus d'autres entités étiologiques telles que le LES, la PM, le SGS, et la sclérodermie.

En pratique médicale, la signification d'une fluorescence cytoplasmique lors de la recherche des anticorps antinucléaires n'est pas univoque, si certains anticorps anti cytoplasmiques n'ont aucune valeur diagnostique, d'autres en revanche ont un réel intérêt clinique. Pour le biologiste, il importe non seulement de reconnaître ces Ac grâce à leur aspect cytoplasmique, mais aussi de mettre en œuvre les techniques d'identification de ces Ac quand cela est nécessaire. Pour le clinicien, si la plupart des fluorescences cytoplasmiques observées lors de la recherche des AAN corroborent les données cliniques (Ac anti-aminoacyl-ARNt synthétases chez un malade ayant une

symptomatologie musculaire...), certaines d'entre elles vont orienter vers une pathologie non évoquée d'emblée (Ac anti-actine chez une patiente ayant une symptomatologie articulaire...). Dans ces cas, la reconnaissance et l'identification de l'Ac anti-cytoplasmique couplées à une bonne confrontation clinico-biologique est d'une importance capitale afin d'asseoir le diagnostic avec plus de précision et d'offrir par conséquent une meilleure prise en charge thérapeutique possible.



*RÉSUMÉS*



## Résumé

**Titre :** Diagnostic immunologique des aspects cytoplasmiques à l'immunofluorescence indirecte

Le marquage cytoplasmique est loin d'être exceptionnel lors de la recherche d'anticorps antinucléaires par immunofluorescence indirecte. Peu de travaux en Afrique et au Maghreb se sont intéressés à l'étude du marquage cytoplasmique, et les données nationales sont quasi-inexistantes.

Le but de notre étude était de décrire les aspects de fluorescence nucléaire et cytoplasmique au cours de la recherche d'AAN par technique d'IFI et de déterminer la signification clinique des spécificités auto-Ac associés aux aspects de marquage cytoplasmique isolés ou associés aux AAN.

Nous avons mené une étude descriptive et rétrospective au niveau du service d'immunologie du Centre Hospitalier Universitaire Mohammed VI du Marrakech, entre janvier 2013 et décembre 2018. Nous avons colligé 128 patients dont 79 cas de suspicion de cholangite biliaire primitive (CBP), 20 cas de lupus érythémateux systémique (LES), 10 cas de dermatopolymyosite (DPM), 7 cas de chevauchement CBP-HAI, 6 cas d'hépatite auto-immune (HAI), 4 cas de syndrome de Gougerot Sjögren (SGS), un cas de sclérodémie et un cas de CBP associée à une polymyosite.

La moyenne d'âge des patients au moment du diagnostic était de 52,50 ans ( $\pm 16.12$ ). Une prédominance féminine a été notée avec un sex-ratio F/H de 8.8.

L'analyse des résultats d'AAN à l'IFI a montré la présence d'un aspect cytoplasmique isolé chez 57% des cas (n=73), et associé à un aspect nucléaire chez 43% des cas (n=55). L'identification des aspects cytoplasmiques retrouvés à l'IFI moyennant une technique immunodot et/ou Elisa a permis de mettre en évidence les spécificités auto-Ac suivantes : Ac antimitochondries (AAM2) dans 60.9% des cas (n=78), Ac anti-glycoprotéines des pores nucléaires (GP210) dans 17.1% des cas (n=22), Ac anti-protéine SP100 dans 19.5% des cas (n=25), Ac anti-soluble liver Antigen (anti-SLA) dans 0.5% des cas (n=1), Ac anti-muscle lisse (ASMA) dans 8.5% des cas (n=11) et Ac anti-

Liver Cytosol (anti-LC1) dans 1.5% des cas (n=2). L'identification des spécificités propres aux aspects de fluorescence nucléaire a mis en évidence la présence d'Ac anti-nucléosome dans 14.1% des cas, d'Ac anti-DNA dans 10.9% des cas, d'Ac anti-histones dans 3.1% des cas, d'Ac anti-Sm et anti-Sm/RNP dans 10.2% des cas, d'Ac anti-PL12 dans 3.9% des cas, et d'Ac anti-Jo1 dans 3.1% des cas.

Confronté aux données cliniques, ce profil immunologique a permis de confirmer le diagnostic de la CBP dans 45.3% des cas, de l'HAI dans 5.47% des cas, du syndrome de chevauchement CBP-HAI dans 14.1% des cas, du LES dans 19.5%, de la DPM dans 10.2% des cas, de SGS dans 3.1% des cas et de la sclérodémie dans 2.3% des cas.

En conclusion, notre étude a mis en évidence une fréquence élevée du marquage cytoplasmique lors de la recherche des AAN par IFI et a permis de mettre en évidence plusieurs spécificités auto-Ac associées à plusieurs MAI, principalement les hépatopathies auto-immunes et les dermatopolymyosites.

Ces données concordent avec des séries de la littérature et soulignent l'importance de considérer la présence de la fluorescence cytoplasmique lors de la recherche des AAN par IFI. Ceci conforte davantage la place de l'IFI dans la démarche diagnostique aussi bien des maladies de système que de certaines maladies spécifiques d'organes, permettant ainsi d'orienter la ou les méthodes d'identification des spécificités auto-Ac appropriées.

**Mots-clés** : AAN, immunofluorescence indirecte, aspect cytoplasmique, auto-anticorps, maladies auto-immunes

## **Abstract**

**Title:** Immunological diagnosis of cytoplasmic patterns in indirect immunofluorescence.

Cytoplasmic staining is far from unusual when searching for antinuclear antibodies by indirect immunofluorescence. In Africa and the Maghreb there is rare research focusing on the study of cytoplasmic staining and the national data is almost non-existent in this domain.

The aim of this study was to describe the patterns of nuclear and cytoplasmic fluorescence during ANA research by IIF technique and to determine the clinical significance of the auto-antibodies associated to cytoplasmic staining patterns whether isolated or associated with ANA.

We conducted a cross-sectional retrospective study at the Department of Immunology of the Mohammed VI University Hospital, over a period of 6 years (January 2013 to December 2018). A total of 128 patients was included, among which there were 79 cases of suspected primary biliary cholangitis (PBC), 20 cases of systemic lupus erythematosus (SLE), 10 cases of dermatomyositis (DM), 7 cases of overlap syndrome PBC-AIH, 6 cases of auto-immune hepatitis (AIH), 4 cases of Sjögren Syndrome, one case of scleroderma and one case of CBP associated with DM.

The mean age of patients was 52.50 years ( $\pm 16.12$ ) and the sex-ratio F/M was 8.8 with a marked female predominance.

The analysis of IIF ANA testing results showed a cytoplasmic pattern in 57 % of cases (n=73), and both cytoplasmic and nuclear patterns in 43 % of cases (n=55).

The identification of the cytoplasmic patterns found using Immunodot and/or Elisa techniques gave displayed the presence of the following auto-antibodies:

- Anti-mitochondrial antibodies (AMA 2) in 60.9% of cases (n=78)
- Anti-glycoprotein-210 antibodies (AntiGP210) in 17.1% of cases (n=22)

- Anti-Sp100 antibodies in 19.5% of cases(n=25)
- Anti-soluble liver Antigen antibodies (anti-SLA) in 0.5 % of cases (n=1)
- Anti-smooth muscle antibodies (ASMA) in 8.5 % of cases (n=11)
- Antibodies to liver cystol (Anti LC1) in 1.5 % of cases (n=2).

Whereas the identification of the nuclear fluorescence patterns revealed the presence of:

- Anti-nucleosome antibodies in 14.1% of cases
- Anti-DNA antibodies in 10.9% of cases
- Anti-histone antibodies in 3.1% of cases
- Anti-Sm and anti-Sm / RNP antibodies in 10.2% of cases
- Anti-PL12 antibodies in 3.9% of cases
- Anti-Jo1 antibodies in 3.1% of cases

Confronted with clinical findings, this immunological profile confirmed the diagnosis of CBP in 45.3% of cases, AIH in 5.47% of cases, overlap syndrome PBC-AIH in 14.1% of cases, SLE in 19.5% of cases, DM in 10.2% of cases, Sjögren Syndrome in 3.1% of cases and scleroderma in 2.3% of cases.

In conclusion, our study showed a high frequency of cytoplasmic staining during the screening for ANA by IIF and highlighted the presence of multiple auto-antibodies associated with several auto-immune diseases, mainly auto-immune hepatitis and dermatomyositis.

Our findings are concordant with prior research and emphasize the importance of considering the presence of cytoplasmic fluorescence when searching for ANA by IIF. This reinforces the IIF place in the diagnosis of both systemic diseases and certain organ-specific autoimmune diseases, thus making it possible to guide the choice of the methods to be used in order of identify of the appropriate auto-antibodies.

**Key words:** ANA, indirect immunofluorescence, cytoplasmic pattern, auto-antibodies, auto-immune diseases.

## ملخص

**العنوان:** التشخيص المناعي للمظاهر السيتوبالزمية باستخدام تئزفة النلورة المزاعفة الغفر المباشرة .

إن العالمة السيتوبالزمية من المسعد أن تكون إسئزافة عند البحث عن مضادات الأجسام لنواة الخلوا باستخدام تئزفة النلورة المزاعفة الغفر المباشرة . و قد اسئمت التؤلل من الأبحاث الإنرئزفة والمغاربية بدراسة هذه العالمة السيتوبالزمية كما هو الحال بالنسبة للمغرب ، نالمة عطبات الوطنية ال نزال مةهولة . و الهدف من إجراء هذه الدراسة هو وصف المظاهر النلورفة السيتوبالزمية و النووفة عند البحث عن مضادات الأجسام في النواة وذلك بتئزفة النلورة المزاعفة الغفر المباشرة . و سحدبد المصمفة السررررفة لمضادات الأجسام عندما تكون مصاحبة لمظاهر سيتوبالزمية قوط أو مرئطة بمظاهر نووفة . ئمنا بدراسة ئبلوفة و وصفة و التي أجريت ئسم المزاعفة بالمسئئفى الرعامعئ محمد السادس بمركئش ما بين ئزانر 2013 و دجبر 2018.

جمعنا خالما 128 مرئضا، منهم 79 حالة اسئناه في التئلف الكبد الصنراوي الئئئئئ، 20 حالة الذئبة الرعامفة الرعامزة ، 10 حالات النهاب الرجد والعضالت، 10 حالات نءاخل الأمراض المزاعفة الممثلة في التئلف الكبد الصنراوي الئئئئئ والنهاب الكبد المزاعف الذئئئ، 7 حالات النهاب الكبد المزاعف الذئئئ، 4 حالات المبالزمة الوابفة للووجرو شوغرن، حالة واحدة للنصلب الرجاءئ، وحالة واحدة للنصلب الرجاءئ مصاحبة لءاء النهاب الرجد والعضالت .

بلغ متوسط العمر عند الشخئص في دراسئنا 52.50 عام مع مةزة الئئئ مؤارزة بالذفور بئسفة 8.8 .أوضح نحلؤل زئئج مضادات الأجسام لنواة الخلوا بتئزفة النلورة المزاعفة الغفر المباشرة عن وجود مظاهر سيتوبالزمية قوط لءى 57% من الرحالت (73 حالة) و أخرى مصاحبة لمظاهر نووفة لءى 43% من الرحالت (55 حالة) . إن سحدبد المظاهر السيتوبالزمية بتئزفة النلورة المزاعفة الغفر المباشرة و أيضا بواسطة تئزفات مزاعفة أخرى قد سلط الضوء على مضادات الأجسام النالفة:

الأجسام المضادة للمئوكوزئري بئسفة 60.9% لءى 78 حالة ،مضادات الرغئكوفروئئئ 210 بئسفة 17.1% لءى 22 حالة ،مضاد الألس بي 100 قء زئوآء بئسفة 19.5% لءى 25 حالة ، مضاد الألس ل أ بئسفة 0.5% لءى حالة واحدة، مضاد الكئئئ بئسفة 8.5% لءى 11 حالة و مضادة ألس 1 لءى 0.5% أي حالة واحدة.

مضادات الرجم الووئ عء 14.1% من الرحالت ، مضادة أجسام الووئ الرئبئ مئووص الكسئج لءى 10.9% ،مضادات المسئون عء 3.1% ،مضادات الأجسام لبرونئئات سمئث ومضادة أجسام برونئئ النواة عء 10.2%، مضاد ج أ 1 لءى 3.9% و مضاد ب ل 12 لءى 3.9%

بالمعاففة مع البؤانات السررررفة ، نالبؤان المزاعف أمكئ من ناكئب شخئص ءاء التئلف الكبد الصنراوي الئئئئئ عء 45.3% من الرحالت ،النهاب الكبد المزاعف الذئئئ عء 5.5% ،نءاخل الأمراض المزاعفة الممثلة في التئلف الكبد الصنراوي الئئئئئ والنهاب الكبد المزاعف الذئئئ





*ANNEXES*



## ANNEXE

### Fiche d'exploitation :

DATE	IP	N° Labo	Service

#### Données sociodémographiques :

- Sexe : 1  2  M
- Age : 1  <20 2  20-29 3  30-39 4  40-49 5  50-59  
6  60-69 7  >70
- IP :
- Service: 1  RHUM 2  PED 3  CARDIO 4  NEURO 5  MEDINT  
6  GASTRO 7  DERMATO 8  PNEUMO 9  REA 10  SLABU  
11  RSP 12  NEPHRO 13  ENDO 14  EXT

#### Données cliniques :

- Devant une suspicion de CBP :** 1  oui 0  non
- ATCDS :  prise médicamenteuse  alcool  maladie auto immune associée .....
- Signes généraux :  AEG  xanthélasma  angiome stellaire  autres : .....
- Signes cliniques :  HSPM  dysphagie  syndrome sec  prurit  
 syndrome de Raynaud  signe de dysfonctionnement thyroïdien  
 Neuropathie  ostéopénie  signe d'HTP  autres .....
- Signes biologiques /radiologique :  cytolysé hépatique  anémie  
 signes de cholestases  autres : .....

- Devant une suspicion de HAI :** 1  oui 0  non
- ATCDS :  prise médicamenteuse  alcool  maladie auto immune associée .....
- Signes généraux :  AEG  ictère  fièvre  autres .....
- Signes cliniques :  hépatite aigu/chronique/fulminante  thyroïdite  
 Cirrhose  arthrite  colite ulcéreuse  overlap syndrome  
 Syndrome sec  autres .....
- Signes biologiques/ radiologiques :  cytolysé hépatique  signes de cholestases  
 autres .....

- Devant une suspicion dermato ou polymyosites :** 1  oui 0  non
- ATCDS :  antécédents familiaux de polymyosites  maladie auto immune associée.
- Signes généraux :  AEG  fièvre  érythème héliotrope  pigmentation brunâtre

Signes cliniques :  polyarthralgies  syndrome de Raynaud  faiblesse musculaire  myalgies  trouble cardiaque (myocardite, péricardite, tr de rythme)  signe ORL (dysphonie, dysphagie, tr respiratoire)  atteinte cutanée  syndrome anti synthétase

Signes biologiques/ radiologiques :  élévation de taux d'enzyme musculaire  trouble à l'EMG  
 Autres .....

**Devant une suspicion de myopathie nécrosante auto immune :** 1  oui 0  non

ATCDS :  antécédents familiaux de polymyosites  maladie auto immune associée.

Signes généraux :  AEG  fièvre  érythème héliotrope  pigmentation brunâtre

Signes cliniques :  déficit musculaire moteur  amyotrophie  myalgies  troubles oculaires  atteinte neuropathique  atteinte pharyngée  atteinte cardiaque  atteinte respiratoire  atteinte orl

Signes biologiques /radiologique :  élévation de taux d'enzyme musculaire CPK  trouble à l'EMG  
 Autres .....

**Devant une suspicion du syndrome de Gougerot Sjogren :** 1  oui 0  non

ATCDS :  maladie auto immune associée.....Signes généraux :  AEG  fièvre

Signes cliniques :  syndrome sec  manifestations articulaire  syndrome de Raynaud  atteinte respiratoire  Vascularite cutanée  myalgies

Signes biologiques /radiologiques :  salivariite à la biopsie salivaire

**Devant une suspicion de LES :** 1  oui 0  non

ATCDS :  maladie auto immune associée .....

Signes généraux :  AEG  fièvre  autres .....

Signes cliniques :  atteinte cutané muqueuse  atteinte rhumatologique  atteinte rénale  atteinte cardiaque  atteinte viscérales  autres .....

Signes biologiques/radiologique :  atteinte hématologique  Autres : .....

**Devant une suspicion de sclérodermie :** 1  oui 0  non

ATCDS :  maladie auto immune associée .....

Signes généraux :  AEG  fièvre  autres : .....

Signes cliniques :  atteinte cutané  atteinte rénale  phénomène de Raynaud  atteinte pulmonaire  HTAP  atteinte cardiaque  atteinte digestive  Crest syndrome

Signes biologiques /radiologiques : .....

**Aspects à l'IFI :**

• Aspect nucléaire :

- |                                    |                                  |                                |
|------------------------------------|----------------------------------|--------------------------------|
| <input type="checkbox"/> Moucheté  | : 1 <input type="checkbox"/> oui | 0 <input type="checkbox"/> non |
| <input type="checkbox"/> Homogène  | : 1 <input type="checkbox"/> oui | 0 <input type="checkbox"/> non |
| <input type="checkbox"/> Nucléaire | : 1 <input type="checkbox"/> oui | 0 <input type="checkbox"/> non |
| <input type="checkbox"/> Mixte     | : 1 <input type="checkbox"/> oui | 0 <input type="checkbox"/> non |

Autres : .....

• Aspect cytoplasmique :

- |   |                                  |                                |
|---|----------------------------------|--------------------------------|
| <input type="checkbox"/> Filamenteux        | : 1 <input type="checkbox"/> oui | 0 <input type="checkbox"/> non |
| <input type="checkbox"/> Granulofilamenteux | : 1 <input type="checkbox"/> oui | 0 <input type="checkbox"/> non |
| <input type="checkbox"/> Granulaire         | : 1 <input type="checkbox"/> oui | 0 <input type="checkbox"/> non |
| <input type="checkbox"/> Non spécifique     | : 1 <input type="checkbox"/> oui | 0 <input type="checkbox"/> non |

• Aspects associés : .....

**Identification des AAN :**

- |                                       |                                |                                |                                   |                                |                                |
|---------------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| <input type="checkbox"/> SSA :        | 1 <input type="checkbox"/> oui | 0 <input type="checkbox"/> non | <input type="checkbox"/> SSB :    | 1 <input type="checkbox"/> oui | 0 <input type="checkbox"/> non |
| <input type="checkbox"/> Sm :         | 1 <input type="checkbox"/> oui | 0 <input type="checkbox"/> non | <input type="checkbox"/> Sm/Rnp : | 1 <input type="checkbox"/> oui | 0 <input type="checkbox"/> non |
| <input type="checkbox"/> Scl70 :      | 1 <input type="checkbox"/> oui | 0 <input type="checkbox"/> non | <input type="checkbox"/> RibP :   | 1 <input type="checkbox"/> oui | 0 <input type="checkbox"/> non |
| <input type="checkbox"/> CENP-B :     | 1 <input type="checkbox"/> oui | 0 <input type="checkbox"/> non | <input type="checkbox"/> Jo-1 :   | 1 <input type="checkbox"/> oui | 0 <input type="checkbox"/> non |
| <input type="checkbox"/> Nucléosome : | 1 <input type="checkbox"/> oui | 0 <input type="checkbox"/> non | <input type="checkbox"/> DNA :    | 1 <input type="checkbox"/> oui | 0 <input type="checkbox"/> non |
| <input type="checkbox"/> Histone :    | 1 <input type="checkbox"/> oui | 0 <input type="checkbox"/> non |                                   |                                |                                |
| <input type="checkbox"/> PMScl :      | 1 <input type="checkbox"/> oui | 0 <input type="checkbox"/> non | <input type="checkbox"/> Ku :     | 1 <input type="checkbox"/> oui | 0 <input type="checkbox"/> non |
| <input type="checkbox"/> MI2 :        | 1 <input type="checkbox"/> oui | 0 <input type="checkbox"/> non | <input type="checkbox"/> SRP24 :  | 1 <input type="checkbox"/> oui | 0 <input type="checkbox"/> non |
| <input type="checkbox"/> PL7 :        | 1 <input type="checkbox"/> oui | 0 <input type="checkbox"/> non | <input type="checkbox"/> PL12 :   | 1 <input type="checkbox"/> oui | 0 <input type="checkbox"/> non |

**Identification des AC anti-tissus :**

- |                                  |                                |                                |                                     |                                |                                |
|----------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| <input type="checkbox"/> AAM2 :  | 1 <input type="checkbox"/> oui | 0 <input type="checkbox"/> non | <input type="checkbox"/> LCI :      | 1 <input type="checkbox"/> oui | 0 <input type="checkbox"/> non |
| <input type="checkbox"/> SLA :   | 1 <input type="checkbox"/> oui | 0 <input type="checkbox"/> non | <input type="checkbox"/> F-actine : | 1 <input type="checkbox"/> oui | 0 <input type="checkbox"/> non |
| <input type="checkbox"/> GP210 : | 1 <input type="checkbox"/> oui | 0 <input type="checkbox"/> non | <input type="checkbox"/> SP100 :    | 1 <input type="checkbox"/> oui | 0 <input type="checkbox"/> non |

**Diagnostic retenu :**

- |   |                                |                                |
|---|--------------------------------|--------------------------------|
| <input type="checkbox"/> Cholangite biliaire primitive :    | 1 <input type="checkbox"/> oui | 0 <input type="checkbox"/> non |
| <input type="checkbox"/> Hépatite auto-immune :             | 1 <input type="checkbox"/> oui | 0 <input type="checkbox"/> non |
| <input type="checkbox"/> Lupus érythémateux systémique :    | 1 <input type="checkbox"/> oui | 0 <input type="checkbox"/> non |
| <input type="checkbox"/> Gougerot Sjogren :                 | 1 <input type="checkbox"/> oui | 0 <input type="checkbox"/> non |
| <input type="checkbox"/> Sclérodémie :                      | 1 <input type="checkbox"/> oui | 0 <input type="checkbox"/> non |
| <input type="checkbox"/> Polymyosites :                     | 1 <input type="checkbox"/> oui | 0 <input type="checkbox"/> non |
| <input type="checkbox"/> Myopathie nécrosante auto-immune : | 1 <input type="checkbox"/> oui | 0 <input type="checkbox"/> non |



*BIBLIOGRAPHIE*



1. **Tron et al :**  
Beauvillain. C, Carrère. F, Chevailler. A. 2006.  
Dépistage des anticorps dirigés contre les antigènes nucléaires solubles.  
Fr Lab. 384 :5970.
2. **Degenne et al :**  
Degenne. D, Magdelaine. C, Vigneron. C. 2006.  
Aspects des anticorps antinucléaires sur les cellules Hep-2.  
Francophone des Laboratoires. 2006 :33-41.
3. **Meroni et al :**  
Meroni. P, Schur. P.2010.  
ANA screening: an old test with new recommendations.  
Ann Rheum Dis. 69:1420-2.
4. **Atouf et al :**  
Atouf. O, Benseffaj. N, Brick. C, Essakalli. M, Ouadghiri. S. 2012.  
Valeur diagnostique des autoanticorps dans les maladies autoimmunes Immuno-analyse.  
Biologie Spécialisée. 27 :233-236.
5. **Sany, Clot :**  
108. Sany, Clot.  
Maladie lupique et autoanticorps.  
Immuno-Rhumatologie, p.25,219-227,235-236.
6. **Dighiero et al :**  
Degenne. D, Magdelaine. C, Vigneron. C. 2006.  
Aspects des anticorps antinucléaires sur les cellules Hep-2.  
Francophone des Laboratoires. 2006 :33-41.
7. **Sibilia et al :**  
Sibilia. J. 2002.  
Autoanticorps Intérêt diagnostique et pronostique en réanimation médicale  
Réanimation. 11 :349-358.
8. **René-Louis Humbel :**  
Revue francophone des laboratoires juillet/aout 2016 - n°484 bis.
9. **Fritzler MJ et al**  
Autoantibody testing. Procedures and significance in systemic rheumatic diseases.

- Meth Archiv Exp Pathol. 1986; 12: 224–60.
10. **K. Lassoued et al :**  
K. Lassoued et al.  
Réanimation 14 (2005) 651–656
11. **Cuenca–Estrella M et al. :**  
Cuenca–Estrella M, Verweij PE, Arendrup MC, et al.  
ESCMID guideline for the diagnosis and management of Candida diseases 2012: diagnostic procedures.  
Clin Microbiol Infect 2012; 18 (Suppl 7):9–18
12. **Jacquier P et al:**  
Jacquier P, Gottstein B, Stingelin Y, Eckert J.  
Immunodiagnosis of toxocarosis in humans: evaluation of a new enzyme–linked immunosorbent assay kit.  
J Clin Microbiol 1991; 29 (9):1831–5.
13. **Beauvillain et al :**  
Beauvillain. C, Carrère. F, Chevailler. A. 2006.  
Dépistage des anticorps dirigés contre les antigènes nucléaires solubles.  
Fr Lab. 384 :59–70.
14. **Bahon Riedinge et al:**  
Bahon Riedinge. I. 2004.  
Détection des anti–ENA anti–SSA (52 et 60kDa) : expérience d'un laboratoire d'auto–immunité.  
Médecine Interne. 25 :421–428.
15. **M. Krebs et al :**  
M. Krebs et al.  
Pathologie Biologie 56 (2008) 15–20.
16. **Revue Francophone des Laboratoires :**  
Laboratoire d'immunologie et d'allergologie Centre hospitalier universitaire Hôpital Larrey  
Revue Francophone des Laboratoires, juillet–août 2006, N ~ 384.
17. **Czaja aj et al :**  
CZAJA AJ, CARPENTER HA, MANNS MP.

- Antibodies to soluble liver antigen, P450IID6 and mitochondrial complexes in chronic hepatitis.  
Gastroenterology, 1993, 105, 1522– 1528
- 18. Journée d'Hépatologie de l'Hôpital Beaujon ;**  
Journée d'Hépatologie de l'Hôpital Beaujon Université 12 Janvier 2013  
Auto-anticorps en Hépatologie Dominique-Charles Valla Service d'Hépatologie, Hôpital Beaujon APHP, Université Paris Diderot, UMR U773 CRB3
- 19. Chantran Y et al.**  
Chantran Y, Corpéchet C, Haddouk D et al.  
Very poor clinical outcome of primary biliary cirrhosis patients with dual positivity for anti-gp210 and anti-sp100 autoantibodies.  
Hepatology 2013; 58: S786-7.
- 20. Johanet C et al:**  
Johanet C, Ballot E.  
Autoantibodies in autoimmune hepatitis: Antiliver kidney microsome type 1 (anti-LKM1) and anti-liver cytosol type 1 (anti-LC1) antibodies.  
Clin Res Hepatol Gastroentérologie 2013; 37 (2): 216-8.
- 21. P. Coppo et al :**  
Service d'hématologie, hôpital Saint-Antoine, Paris, France.2005
- 22. Chrétien-Leprince P et al**  
Diagnostic value of anti-F-actine antibodies in a French multicenter study,  
Ann.NY Acad. ScL 1050 (2005) 266-273.
- 23. Fabien N et al :**  
Fabien N, Moreira A, Lavergne J.P, Desbos A, Surgey P, Alves de Olivera C, Gonzalo P Venot A, Bienvenu J, Perrier H, Reboud J.P., Monier J.C  
Autoantibodies directed against the ribosomal P proteins are not only directed against a common epitope of the P0, P1 and P2 proteins, J. Autoimmun. 13(1) (1999) 103-110.
- 24. Johanet C et al :**  
Acquisitions recentes dans les marqueurs des maladies du foie et des voies biliaires  
3e Celloque du GEAI (Groupe d'étude de l'auto-immunité)  
Rev. Fr. Lab. 361 (supplement) (2004) 29-33.
- 25. Left R.L et al:**  
Left R.L., Burgess S.H., Miller E.W., Love L.A., Targoff I.N., Dalakas M.C., Joffe M.M., Plotz P.H

Distinct seasonal patterns in the onset of adult idiopathic inflammatory myopathy in patients with anti-Jo-1 and anti-signal recognition particle autoantibodies

26. **Mastaglia EL et al:**  
Mastaglia EL., Garlepp M.J., Phillips B.A., Zitko P.J.,  
Inflammatory myopathies: clinical, diagnostic and therapeutic aspects, Muscle Nerve.27(4)  
(2003) 407-425
27. **Bradwell AR et al:**  
Bradwell AR, Stokes RP, Mead GP  
Advanced atlas of autoantibody patterns.  
Birmingham: The Binding Site, 1999; pp. 98-99.
28. **Carlo Selmi et al:**  
Division of Rheumatology and Clinical Immunology, Humanitas Clinical and Research  
Center, Rozzano, Milan, Italy University of Milan, Milan, Italy
29. **Minoru Satoh, et al:**  
Environmental Autoimmunity Group, Program of Clinical Research  
National Institute of Environmental Health Sciences.
30. **Gouilleux-Gruart et al :**  
Service d'immunologie, CHU d'Amiens, France 2005
31. **Manas K. Akmatov et al :**  
Centre for Experimental and Clinical Infection Research, Feodor-Lynen-Straße 7, 30625  
Hannover, Germany 2Helmholtz Centre for Infection Research, Braunschweig, Germany Full  
list of author information is available at the end of the article.
32. **Teresa Carbone et al:**  
Prevalence and serological profile of anti-DFS70 positive subjects from a routine ANA  
cohort
33. **Peter w. french et al:**  
Centre for Immunology, St. Vincent's Hospital, Victoria Street, Sydney 2010, New South  
Wales, Australia
34. **Wei-Howe Koh et al:**  
Royal National Hospital for Rheumatic Diseases,

Upper Borough Walls, Bath BA1 1RL, United Kingdom NJ McHugh Correspondence to: Dr NJ McHugh. Accepted for publication 17 November 1994

35. **Jean-Luc Senecal et al :**  
From the Rheumatic Disease Unit, Department of Medicine, University of Montreal School of Medicine, Montreal, Quebec, Canada  
the Division of Rheumatic Diseases, Department of Medicine, University of Connecticut School of Medicine, Farmington; and the Department of Pathology, University of New Mexico School of Medicine, Albuquerque.
36. **Wendy Y. Craig et al:**  
Wendy Y. Craig\*, Thomas B. Ledue, Marilyn F. Collins, William E. Meggison, Lynda F. Leavitt and Robert F. Ritchie  
Foundation for Blood Research, Scarborough, ME, USA.
37. **Lausanne Anne-Claude Fahrni**  
Service de pneumologie Dpt de médecine, CHU le 15.12.2016  
Utilité des anticorps anti-cytoplasme dans le dépistage des myopathies de chevauchement (Syndrome des anti-synthétases)
38. **Benzerjeb et al :**  
Données épidémiologiques, cliniques et évolutives des hépatopathies Chroniques non virale : Étude multicentrique dans l'Ouest Algérien 2015
39. **Loukil H et al :**  
Loukil H, Frikha H, Snoussi M, El Aoud S, Ben Salah R, Cherif Y, Jallouli M, Marzouk  
Maladies systémiques associées à la cholangite biliaire primitive : à propos de 10 cas. La revue de médecine interne 2014 ;35(1) ;190-1. Doi 10.1016/j.revmed.2014.03.326
40. **Oettinger R et al:**  
Oettinger R, Brunberg A, Gerner P, Wintermeyer P, Jenk A.  
Clinical features a biochemical data of Caucasian children at diagnosis of autoimmune hepatitis. Journal of Autoimmunity 2005; 24:79-84.
41. **Chazouillères O.**  
Hépatites autoimmunes : actualités HEPATOLOGIE 2000 ;12 :17-29.
42. **Serghini M et al:**  
Serghini M, Haddad W, Karoui S, Ben Mustapha N, Kallel L, Fekih

- Syndrome de chevauchement entre hépatite auto- Immune et cholangite biliaire primitive.  
La Tunisie Médicale 2012 ;90(10) :741-3.
- 43. Diallo MS et al :**  
Diallo MS, Mbengue B, Seck A, Ndao AC, Niang MS, Cissoko Y et al.  
Evolution of autoantibodies profile in systemic lupus erythematosus according to age and clinical manifestations. Ann Biol Clin. 2014 ; 72(3) :351-8.
- 44. Pons-Estel BA et al :**  
The GLADEL multinational Latin American prospective inception cohort of 1,214 patients with systemic lupus erythematosus: ethnic and disease heterogeneity among "Hispanics".  
Medicine (Baltimore). 2004 Jan;83(1):1-17
- 45. Troyanov Y et al**  
Novel classification of idiopathic inflammatory myopathies based on overlap syndrome features and autoantibodies: analysis of 100 French Canadian patients.  
Medicine (Baltimore). juill 2005;84(4):231-49.
- 46. Vanska A et al.**  
Auto-anticorps spécifiques et auto-anticorps associés des myosites dans les syndromes de chevauchement et les dermatopolymyosites primitives : intérêt pour la classification clinique : étude rétrospective transversale de 169 patients.  
Rev Rhum. 77 :149-55
- 47. Allenbach Y et al :**  
Apport des auto-anticorps au cours des myopathies auto-immunes  
Revue neurologique. Sept 2013 ; 169 ;656 - 624.
- 48. Fernandez C et al :**  
Correlation of clinicoserologic and pathologic classifications of inflammatory myopathies: study of 178 cases and guidelines for diagnosis.  
Medicine (Baltimore). janv 2013;92(1):15-24.
- 49. Koenig M et al:**  
Heterogeneity of autoantibodies in 100 patients with autoimmune myositis: insights into clinical features and outcomes.  
Arthritis Res Ther. 2007;9(4): R78.
- 50. Tager RE et al:**  
Clinical and laboratory manifestations of systemic sclerosis (scleroderma) in Black South Africans.

- Rheumatology (Oxford, England). 1999 May; 38(5): p. 397–400.
51. **Sánchez-Montalvá et al :**  
Anti-SSA/Ro52 autoantibodies in scleroderma: results of an observational, cross sectional study.  
Clinical and experimental rheumatology; 32(6 Suppl 86): p. S-177–82.
52. **Hoffman et al.**  
Specific antinuclear antibodies are associated with clinical features in systemic lupus erythematosus.  
Ann Rheum Dis. 2004 Sep;63(9):1155–8
53. **Burlingame et al:**  
The central role of chromatin in autoimmune responses to histones and DNA in systemic lupus erythematosus.  
Clin Invest.1994; 94: 184–92.
54. **Min DJ et al:**  
Anti-nucleosome antibody: significance in lupus patients lacking anti-double-stranded DNA antibody.  
Clin Exp Rheumatol. 2002 Jan–Feb;20(1):13–8.
55. **C. Martel et al :**  
Physiopathologie du syndrome de Gougerot-Sjögren primitif.  
Rev Med Interne (2014).
56. **Ildiko Fanny et al:**  
Clinical Course Prognosis, and Cause of Death in Primary Sjögren's Syndrome.  
Journal of Immunology Research.  
Volume 2014, Article ID 647507.
57. **Friedman JA et al:**  
consecutive patients with primary Sjögren's syndrome in Israel: Ashkenazi patients compared with those of Sephardic descent.  
Clin Exp Rheumatol 2006; 24:274–80.
58. **Bradwell AR et al:**  
Advanced atlas of autoantibody patterns.  
Birmingham : The Binding Site, 1999 ; pp. 98–99.

59. **Worman HJ et al.**  
Autoan/bodies against nuclear envelope proteins in liver disease.  
Hepatology 1991.
60. **Claire Goulvestre et al :**  
Anticorps antinucléaires Presse Med. 2006 ; 35 : 287-95
61. **J-L. Preud'homme et al :**  
Autoimmunité et auto-anticorps Paris  
Cahier de formation biologie médicale 1999,13 :4-45
62. **Emlen W et al:**  
Clinical significance of antinuclear antibodies.  
Comparison of detection with 10 immunofluorescence and enzyme-linked immunosorbent assays.  
Arthritis Rheum 1997; 40: 1612-8.
63. **COFER et al :**  
Collège Français des Enseignants en Rhumatologie Université Médicale Virtuelle Francophone.  
**Photo 1 :**  
<https://www.armv-paca.org/index.php/full-doc/495-aan-pour-les-nuls-e-blanchouin-15-6-2013-1/file>  
**Photo 2 :**  
<https://www.abcam.com/histone-h4-antibody-chip-grade-ab10158.html>  
**Photo 3 :**  
<https://www.antibodies-online.com/antibody/948169/anti-Nucleosome+Assembly+Protein+1-Like+3+NAP1L3+AA+1-506+antibody/>  
**Photo 4 :**  
<http://assasmus.unblog.fr/2010/05/01/immunofluorescence-maladies-auto-immunes/>  
**Photo 5 :**  
[https://en.wikipedia.org/wiki/Anti-SSA/Ro\\_autoantibodies](https://en.wikipedia.org/wiki/Anti-SSA/Ro_autoantibodies)  
**Photo 6 :**  
<https://www.lsbio.com/antibodies/ssb-antibody-la-antibody-clone-9d6-flow-if-immunofluorescence-ihc-ip-wb-western-ihc-plus-ls-b10013/239943>  
**Photo 7 :**  
<http://asc.dental.ufl.edu/ReferenceSera.html>  
**Photo 8 :**  
[https://www.anapatterns.org/view\\_pattern.php?pattern=4](https://www.anapatterns.org/view_pattern.php?pattern=4)  
**Photo 9 :**  
<https://slideplayer.fr/slide/495928/>  
**Photo 10 :**  
<https://docplayer.fr/22666351-Cirrhose-biliaire-primitive-diagnostic-et-traitement.html>  
**Photo 11 :**

<https://www.google.co.ma/search?tbm=isch&q=aspect+de+fluorescence+nucl%C3%A9olaire&spell=1&sa=X&ved=0ahUKEwii5sPw2ZTiAhUNsXUIHTB9DW0QBQg6KAA&biw=1366&bih=625&dpr=1#imgrc=GYHeyhGCGUnOgM>

**Photo 12 :**

<https://docplayer.fr/12314732-Les-anticorps-antinucleaires-ana.html>

**Photo 13 :**

<http://www.geai-lesautoanticorps.fr/50-Anticorps-antinucleaires>

**Photo 14 :**

<https://www.fhu-imminent.org/accentro/>

**Photo 15 :**

<http://www.centre-hepato-biliaire.org/maladies-foie/hepatite-autoimmune.html>

**Photo 16 :**

<https://docplayer.fr/12314732-Les-anticorps-antinucleaires-ana.html>

**Photo 17 :**

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0369811407001952>

**Photo 18 :**

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0369811407001952>

**Photo 19 :**

<https://docplayer.fr/6014477-Les-anticorps-anti-srp.html>

**Photo 20 :**

<https://www.birmingham.ac.uk/facilities/clinical-immunology-services/autoimmunity/liver-associated-antibodies/Liver-antibodies.aspx>

**Photo 21 :**

<https://www.birmingham.ac.uk/facilities/clinical-immunology-services/autoimmunity/liver-associated-antibodies/Liver-antibodies.aspx>

**Photo 22 :**

<https://www.birmingham.ac.uk/facilities/clinical-immunology-services/autoimmunity/liver-associated-antibodies/Liver-antibodies.aspx>

**Photo 23 :**

[https://www.lesjeudisdefleurus.org/uploads/files/compte\\_rendus/Ph Biol L Dierge.pdf](https://www.lesjeudisdefleurus.org/uploads/files/compte_rendus/Ph Biol L Dierge.pdf)



# قسم الطبيب

أُقِمْ سِيْرُ الْبَهْلِلِ الْعَظِيمِ

وَأَنْ أَوْجِدَ حَيَاةَ الْبَشَرِ فِي أَطْوَارِهَا فِي كُلِّ الظُّرُوفِ  
كَأَنَّهَا

وَأَلْجَأَ بِأَذَى وَبِعَيْ فِي أَنْفَادِهَا مِنْ لِيْ تَوَالِمِ رُضِ  
ال

وَاللَّمَّ وَالْقَلَقِ.

وَأَنْ أَحْلَسَ كَرَامَتَهُمْ، وَأَسْرِعَ حُرَّتَهُمْ، وَأَكْتُمَ سِرَّهُمْ.  
نَظَرًا

وَأَنْ أَكُونَ لِيْ الدَّوَامِينَ وَسَا رَحِمَ هَلَا، بِأَذَى رِعَا الطَّبِيْبَةَ لِلْقُرْبِ وَالْبَعِيدِ،  
لِيْ

لِلصَّالِحِ وَالظَّالِحِ، وَالصَّدِيقِ وَالْعَدُوِّ.

وَأَنْ أَتَابِرَ عَلَى طَلَبِ الْعِلْمِ، وَأَسْأَلُ نَافِلَةَ الْبَنِّ الْبَاهِ.  
خَيْرًا عَنِ الْإِلْهِ

وَأَنْ أُرْمَنَ عَيْبِي، وَأُعْمِنَ غُضُنِي، وَأَكُونَ أَخِي لِيْ نَمِيْ الْمَهْدَةِ لِيْ  
وَلِيْ

الطَّبِيْبَةَ بِرَبِّهَا وَمَعَهَا لِيْ الْبِ وَالْتَقْوَى.  
لِيْ

لِيْ سِيْ ، لِيْ لِيْ ، مَمْلُوكِينَ لِيْ

وَأَنْ تَكُونَ حَالِقًا فِي  
يَا نِي م

هَلَّا وَسَوْ طَلَمَوْ خُونِ  
هَلَّا

وهللا على ما أقول شهيدا

أطروحة رقم 94

سنة 2019

التشخيص المناعي للمظاهر السريرية وبالزمن باستخدام تقنية الفلورة  
المناعية الغير المباشرة

الأطروحة

قدمت ونوقشت عالمياً يوم 2019/04/23

من طرف

**السيدة الغزوي بهية**

المزداة في 10 ابريل 1993

**لنيل شهادة الدكتوراه في الطب**

الكلمات الأساسية:

مضادات الأجسام - لزواة الخالبا - الفلورة المناعية الغير المباشرة - المظاهر السريرية بالزمن - الأمراض المناعية.

الجنة

الرئيس

س. زهير

السيد

أستاذ في علم الميكروبيولوجيا

المشرف

ب. ادمو

السيد

أستاذ في علم المناعة

ل. ادموش

السيدة

أستاذ مبرزة في علم الوبائيات السريرية

م. ايت عامر

السيد

الحكام

أستاذة مبرزة في أمراض الدم الحنوية

ص. اوبها

السيدة

أستاذ مبرزة في علم وظائف الأعضاء