

UNIVERSITE MOHAMMED V - RABAT
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT-

ANNEE: 2018

THESE N°: 86

LE DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE
DES MALADIES AUTO-IMMUNES SYSTÉMIQUES

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le

PAR

Mlle. Omayma LAMDARSI

Née le 09 Juillet 1992 à Fès

Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie

MOTS CLES : Maladies auto-immunes systémiques – Diagnostic Biologique – Auto-anticorps.

JURY

Mr. A. MASRAR

Professeur d'Hématologie biologique

Mme. M. NAZIH

Professeur d'Hématologie biologique

Mr. A. DAMI

Professeur de Biochimie

Mme. S. BENKIRANE

Professeur d'Hématologie biologique

Mr. A. KHALLOUFI

Professeur Assistant en Hématologie Biologique

PRESIDENT

RAPPORTEUR

JUGES

MEMBRE ASSOCIE

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

سبحانك لا علم لنا إلا ما علمتنا
إنك أنت العليم الحكيم

سورة البقرة: الآية: 31

صَلَّى
الْعَظِيمِ



UNIVERSITE MOHAMMED V DE RABAT
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT

DOYENS HONORAIRES :

1962 – 1969 : Professeur Abdelmalek FARAJ
1969 – 1974 : Professeur Abdellatif BERBICH
1974 – 1981 : Professeur Bachir LAZRAK
1981 – 1989 : Professeur Taieb CHKILI
1989 – 1997 : Professeur Mohamed Tahar ALAOUI
1997 – 2003 : Professeur Abdelmajid BELMAHI
2003 – 2013 : Professeur Najia HAJJAJ - HASSOUNI



ADMINISTRATION :

Doyen : Professeur Mohamed ADNAOUI
Vice Doyen chargé des Affaires Académiques et estudiantines
Professeur Mohammed AHALLAT
Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération
Professeur Taoufiq DAKKA
Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie
Professeur Jamal TAOUFIK
Secrétaire Général : Mr. Mohamed KARRA

1- ENSEIGNANTS-CHERCHEURS MEDECINS

**ET
PHARMACIENS**

PROFESSEURS :

Décembre 1984

Pr. MAAOUNI Abdelaziz
Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi
Pr. SETTAF Abdellatif

Médecine Interne – **Clinique Royale**
Anesthésie -Réanimation
pathologie Chirurgicale

Novembre et Décembre 1985

Pr. BENSAID Younes

Pathologie Chirurgicale

Janvier, Février et Décembre 1987

Pr. CHAHED OUZZANI Houria
Pr. LACHKAR Hassan
Pr. YAHYAOUY Mohamed

Gastro-Entérologie
Médecine Interne
Neurologie

Décembre 1988

Pr. BENHAMAMOUCH Mohamed Najib
Pr. DAFIRI Rachida

Chirurgie Pédiatrique
Radiologie

Décembre 1989

Pr. ADNABOU Mohamed
Pr. CHAD Bouziane
Pr. OUZZANI Taïbi Mohamed Réda

Janvier et Novembre 1990

Pr. CHKOFF Rachid
Pr. HACHIM Mohammed*
Pr. KHARBACH Aïcha
Pr. MANSOURI Fatima
Pr. TAZI Saoud Anas

Février Avril Juillet et Décembre 1991

Pr. AL HAMANY Zaïtounia
Pr. AZZOUZI Abderrahim
Pr. BAYAHIA Rabéa
Pr. BELKOUCHI Abdelkader
Pr. BENCHEKROUN Belabbes Abdellatif
Pr. BENSOUDA Yahia
Pr. BERRAHO Amina
Pr. BEZZAD Rachid
Pr. CHABRAOUI Layachi
Pr. CHERRAH Yahia
Pr. CHOKAIRI Omar
Pr. KHATTAB Mohamed
Pr. SOULAYMANI Rachida
Pr. TAOUFIK Jamal

Décembre 1992

Pr. AHALLAT Mohamed
Pr. BENSOUDA Adil
Pr. BOUJIDA Mohamed Najib
Pr. CHAHED OUZZANI Laaziza
Pr. CHRAIBI Chafiq
Pr. DEHAYNI Mohamed*
Pr. EL OUAHABI Abdessamad
Pr. FELLAT Rokaya
Pr. GHAFIR Driss*
Pr. JIDDANE Mohamed
Pr. TAGHY Ahmed
Pr. ZOUHDI Mimoun

Mars 1994

Pr. BENJAAFAR Noureddine
Pr. BEN RAIS Nozha
Pr. CAOUI Malika
Pr. CHRAIBI Abdelmjid

Pr. EL AMRANI Sabah

Médecine Interne – **Doyen de la FMPR**
Pathologie Chirurgicale
Neurologie

Pathologie Chirurgicale
Médecine-Interne
Gynécologie -Obstétrique
Anatomie-Pathologique
Anesthésie Réanimation

Anatomie-Pathologique
Anesthésie Réanimation – **Doyen de la FMPO**
Néphrologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pharmacie galénique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Biochimie et Chimie
Pharmacologie
Histologie Embryologie
Pédiatrie
Pharmacologie – **Dir. du Centre National PV**
Chimie thérapeutique **V.D à la pharmacie+Dir du CEDOC**

Chirurgie Générale V.D Aff. Acad. et Estud
Anesthésie Réanimation
Radiologie
Gastro-Entérologie
Gynécologie Obstétrique
Gynécologie Obstétrique
Neurochirurgie
Cardiologie
Médecine Interne
Anatomie
Chirurgie Générale
Microbiologie



Radiothérapie
Biophysique
Biophysique
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Doyen de la FMPA
Gynécologie Obstétrique

Pr. EL BARDOUNI Ahmed
 Pr. EL HASSANI My Rachid
 Pr. ERROUGANI Abdelkader
 Pr. ESSAKALI Malika
 Pr. ETTAYEBI Fouad
 Pr. HADRI Larbi*
 Pr. HASSAM Badredine
 Pr. IFRINE Lahssan
 Pr. JELTHI Ahmed
 Pr. MAHFOUD Mustapha
 Pr. RHRAB Brahim
 Pr. SENOUCI Karima

Mars 1994

Pr. ABBAR Mohamed*
 Pr. ABDELHAK M'barek
 Pr. BELAIDI Halima
 Pr. BENTAHILA Abdelali
 Pr. BENYAHIA Mohammed Ali
 Pr. BERRADA Mohamed Saleh
 Pr. CHAMI Ilham
 Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae
 Pr. JALIL Abdelouahed
 Pr. LAKHDAR Amina
 Pr. MOUANE Nezha

Mars 1995

Pr. ABOUQUAL Redouane
 Pr. AMRAOUI Mohamed
 Pr. BAIDADA Abdelaziz
 Pr. BARGACH Samir
 Pr. CHAARI Jilali*
 Pr. DIMOU M'barek*
 Pr. DRISSI KAMILI Med Nordine*
 Pr. EL MESNAOUI Abbes
 Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila
 Pr. HDA Abdelhamid*
 Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed
 Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia
 Pr. SEFIANI Abdelaziz
 Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

Décembre 1996

Pr. AMIL Touriya*
 Pr. BELKACEM Rachid
 Pr. BOULANOUAR Abdelkrim
 Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan
 Pr. GAOUZI Ahmed
 Pr. MAHFOUDI M'barek*
 Pr. OUADGHIRI Mohamed
 Pr. OUZEDDOUN Naima
 Pr. ZBIR EL Mehdi*

Traumato-Orthopédie
 Radiologie
 Chirurgie Générale- **Directeur CHIS**
 Immunologie
 Chirurgie Pédiatrique
 Médecine Interne
 Dermatologie
 Chirurgie Générale
 Anatomie Pathologique
 Traumatologie – Orthopédie
 Gynécologie –Obstétrique
 Dermatologie

Urologie
 Chirurgie – Pédiatrique
 Neurologie
 Pédiatrie
 Gynécologie – Obstétrique
 Traumatologie – Orthopédie
 Radiologie
 Ophtalmologie
 Chirurgie Générale
 Gynécologie Obstétrique
 Pédiatrie

Réanimation Médicale
 Chirurgie Générale
 Gynécologie Obstétrique
 Gynécologie Obstétrique
 Médecine Interne
 Anesthésie Réanimation
 Anesthésie Réanimation
 Chirurgie Générale
 Oto-Rhino-Laryngologie
 Cardiologie - **Directeur HMI Med V**
 Urologie
 Ophtalmologie
 Génétique
 Réanimation Médicale

Radiologie
 Chirurgie Pédiatrie
 Ophtalmologie
 Chirurgie Générale
 Pédiatrie
 Radiologie
 Traumatologie-Orthopédie
 Néphrologie
 Cardiologie



Novembre 1997

Pr. ALAMI Mohamed Hassan
Pr. BEN SLIMANE Lounis
Pr. BIROUK Nazha
Pr. ERREIMI Naima
Pr. FELLAT Nadia
Pr. HAIMEUR Charki*
Pr. KADDOURI Nouredine
Pr. KOUTANI Abdellatif
Pr. LAHLOU Mohamed Khalid
Pr. MAHRAOUI CHAFIQ
Pr. TAOUFIQ Jallal
Pr. YOUSFI MALKI Mounia

Gynécologie-Obstétrique
Urologie
Neurologie
Pédiatrie
Cardiologie
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Pédiatrique
Urologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Psychiatrie
Gynécologie Obstétrique

Novembre 1998

Pr. AFIFI RAJAA
Pr. BENOMAR ALI
Pr. BOUGTAB Abdesslam
Pr. ER RIHANI Hassan
Pr. BENKIRANE Majid*
Pr. KHATOURI ALI*

Gastro-Entérologie
Neurologie – *Doyen de la FMP Abulcassis*
Chirurgie Générale
Oncologie Médicale
Hématologie
Cardiologie

Janvier 2000

Pr. ABID Ahmed*
Pr. AIT OUMAR Hassan
Pr. BENJELLOUN Dakhama Badr.Sououd
Pr. BOURKADI Jamal-Eddine
Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer
Pr. ECHARRAB El Mahjoub
Pr. EL FTOUH Mustapha
Pr. EL MOSTARCHID Brahim*
Pr. ISMAILI Hassane*
Pr. MAHMOUDI Abdelkrim*
Pr. TACHINANTE Rajae
Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Pneumophtisiologie
Pédiatrie
Pédiatrie
Pneumo-phtisiologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Pneumo-phtisiologie
Neurochirurgie
Traumatologie Orthopédie- *Dir. Hop. Av. Marr.*
Anesthésie-Réanimation *Inspecteur du SSM*
Anesthésie-Réanimation
Médecine Interne



Novembre 2000

Pr. AIDI Saadia
Pr. AJANA Fatima Zohra
Pr. BENAMR Said
Pr. CHERTI Mohammed
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma
Pr. EL HASSANI Amine
Pr. EL KHADER Khalid
Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah*
Pr. GHARBI Mohamed El Hassan
Pr. MAHASSINI Najat
Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae
Pr. ROUIMI Abdelhadi*

Neurologie
Gastro-Entérologie
Chirurgie Générale
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Pédiatrie *Directeur Hop. Chekikh Zaied*
Urologie
Rhumatologie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Anatomie Pathologique
Pédiatrie
Neurologie

Décembre 2000

Pr. ZOHAIR ABDELAH*

ORL

Décembre 2001

Pr. BALKHI Hicham*
Pr. BENABDELJLIL Maria
Pr. BENAMAR Loubna
Pr. BENAMOR Jouda
Pr. BENELBARHDADI Imane
Pr. BENNANI Rajae
Pr. BENOUECHANE Thami
Pr. BEZZA Ahmed*
Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi
Pr. BOUMDIN El Hassane*
Pr. CHAT Latifa
Pr. DAALI Mustapha*
Pr. DRISSI Sidi Mourad*
Pr. EL HIJRI Ahmed
Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid
Pr. EL MADHI Tarik
Pr. EL OUNANI Mohamed
Pr. ETTAIR Said
Pr. GAZZAZ Miloudi*
Pr. HRORA Abdelmalek
Pr. KABBAJ Saad
Pr. KABIRI EL Hassane*
Pr. LAMRANI Moulay Omar
Pr. LEKEHAL Brahim
Pr. MAHASSIN Fattouma*
Pr. MEDARHRI Jalil
Pr. MIKDAME Mohammed*
Pr. MOHSINE Raouf
Pr. NOUINI Yassine
Pr. SABBABH Farid
Pr. SEFIANI Yasser
Pr. TAOUFIK BENCHEKROUN Soumia

Anesthésie-Réanimation
Neurologie
Néphrologie
Pneumo-phtisiologie
Gastro-Entérologie
Cardiologie
Pédiatrie
Rhumatologie
Anatomie
Radiologie
Radiologie
Chirurgie Générale
Radiologie
Anesthésie-Réanimation
Neuro-Chirurgie
Chirurgie-Pédiatrique
Chirurgie Générale
Pédiatrie **Directeur. Hop.d'Enfants**
Neuro-Chirurgie
Chirurgie Générale
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Thoracique
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Médecine Interne
Chirurgie Générale
Hématologie Clinique
Chirurgie Générale
Urologie **Directeur Hôpital Ibn Sina**
Chirurgie Générale
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Pédiatrie



Décembre 2002

Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*
Pr. AMEUR Ahmed *
Pr. AMRI Rachida
Pr. AOURARH Aziz*
Pr. BAMOU Youssef *
Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*
Pr. BENZEKRI Laila
Pr. BENZZOUBEIR Nadia
Pr. BERNOUSSI Zakiya
Pr. BICHRA Mohamed Zakariya*
Pr. CHOHO Abdelkrim *

Anatomie Pathologique
Urologie
Cardiologie
Gastro-Entérologie
Biochimie-Chimie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Dermatologie
Gastro-Entérologie
Anatomie Pathologique
Psychiatrie
Chirurgie Générale

Pr. CHKIRATE Bouchra
 Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair
 Pr. EL HAOURI Mohamed *
 Pr. FILALI ADIB Abdelhai
 Pr. HAJJI Zakia
 Pr. IKEN Ali
 Pr. JAAFAR Abdeloihab*
 Pr. KRIOUILE Yamina
 Pr. LAGHMARI Mina
 Pr. MABROUK Hfid*
 Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss*
 Pr. OUJILAL Abdelilah
 Pr. RACHID Khalid *
 Pr. RAISS Mohamed
 Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha*
 Pr. RHOU Hakima
 Pr. SIAH Samir *
 Pr. THIMOU Amal
 Pr. ZENTAR Aziz*

Janvier 2004

Pr. ABDELLAH El Hassan
 Pr. AMRANI Mariam
 Pr. BENBOUZID Mohammed Anas
 Pr. BENKIRANE Ahmed*
 Pr. BOUGHALEM Mohamed*
 Pr. BOULAADAS Malik
 Pr. BOURAZZA Ahmed*
 Pr. CHAGAR Belkacem*
 Pr. CHERRADI Nadia
 Pr. EL FENNI Jamal*
 Pr. EL HANCHI ZAKI
 Pr. EL KHORASSANI Mohamed
 Pr. EL YOUNASSI Badreddine*
 Pr. HACHI Hafid
 Pr. JABOUIRIK Fatima
 Pr. KHARMAZ Mohamed
 Pr. MOUGHIL Said
 Pr. OUBAAZ Abdelbarre*
 Pr. TARIB Abdelilah*
 Pr. TIJAMI Fouad
 Pr. ZARZUR Jamila

Janvier 2005

Pr. ABBASSI Abdellah
 Pr. AL KANDRY Sif Eddine*
 Pr. ALLALI Fadoua
 Pr. AMAZOUZI Abdellah
 Pr. AZIZ Nouredine*
 Pr. BAHIRI Rachid

Pédiatrie
 Chirurgie Pédiatrique
 Dermatologie
 Gynécologie Obstétrique
 Ophtalmologie
 Urologie
 Traumatologie Orthopédie
 Pédiatrie
 Ophtalmologie
 Traumatologie Orthopédie
 Gynécologie Obstétrique
 Oto-Rhino-Laryngologie
 Traumatologie Orthopédie
 Chirurgie Générale
 Pneumophtisiologie
 Néphrologie
 Anesthésie Réanimation
 Pédiatrie
 Chirurgie Générale

Ophtalmologie
 Anatomie Pathologique
 Oto-Rhino-Laryngologie
 Gastro-Entérologie
 Anesthésie Réanimation
 Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
 Neurologie
 Traumatologie Orthopédie
 Anatomie Pathologique
 Radiologie
 Gynécologie Obstétrique
 Pédiatrie
 Cardiologie
 Chirurgie Générale
 Pédiatrie
 Traumatologie Orthopédie
 Chirurgie Cardio-Vasculaire
 Ophtalmologie
 Pharmacie Clinique
 Chirurgie Générale
 Cardiologie



Chirurgie Réparatrice et Plastique
 Chirurgie Générale
 Rhumatologie
 Ophtalmologie
 Radiologie
 Rhumatologie

Pr. BARKAT Amina
 Pr. BENYASS Aatif
 Pr. BERNOUSSI Abdelghani
 Pr. DOUDOUH Abderrahim*
 Pr. EL HAMZAoui Sakina*
 Pr. HAJJI Leila
 Pr. HESSISSEN Leila
 Pr. JIDAL Mohamed*
 Pr. LAAROUSSI Mohamed
 Pr. LYAGOUBI Mohammed
 Pr. NIAMANE Radouane*
 Pr. RAGALA Abdelhak
 Pr. SBIHI Souad
 Pr. ZERAIDI Najia

Décembre 2005 Pr. CHANI Mohamed

Avril 2006

Pr. ACHEMLAL Lahsen*
 Pr. AKJOUJ Said*
 Pr. BELMEKKI Abdelkader*
 Pr. BENCHEIKH Razika
 Pr. BIYI Abdelhamid*
 Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine
 Pr. BOULAHYA Abdellatif*
 Pr. CHENGUETI ANSARI Anas
 Pr. DOGHMI Nawal
 Pr. FELLAT Ibtissam
 Pr. FAROUDY Mamoun
 Pr. HARMOUCHE Hicham
 Pr. HANAFI Sidi Mohamed*
 Pr. IDRIS LAHLOU Amine*
 Pr. JROUNDI Laila
 Pr. KARMOUNI Tariq
 Pr. KILI Amina
 Pr. KISRA Hassan
 Pr. KISRA Mounir
 Pr. LAATIRIS Abdelkader*
 Pr. LMIMOUNI Badreddine*
 Pr. MANSOURI Hamid*
 Pr. OUANASS Abderrazzak
 Pr. SAFI Soumaya*
 Pr. SEKKAT Fatima Zahra
 Pr. SOUALHI Mouna
 Pr. TELLAL Saida*
 Pr. ZAHRAOUI Rachida

Octobre 2007

Pr. ABIDI Khalid
 Pr. ACHACHI Leila
 Pr. ACHOUR Abdessamad*

Pédiatrie
 Cardiologie
 Ophtalmologie
 Biophysique
 Microbiologie
 Cardiologie (mise en disponibilité)
 Pédiatrie
 Radiologie
 Chirurgie Cardio-vasculaire
 Parasitologie
 Rhumatologie
 Gynécologie Obstétrique
 Histo-Embryologie Cytogénétique
 Gynécologie Obstétrique

Anesthésie Réanimation

Rhumatologie
 Radiologie
 Hématologie
 O.R.L.
 Biophysique
 Chirurgie - Pédiatrique
 Chirurgie Cardio – Vasculaire
 Gynécologie Obstétrique
 Cardiologie
 Cardiologie
 Anesthésie Réanimation
 Médecine Interne
 Anesthésie Réanimation
 Microbiologie
 Radiologie
 Urologie
 Pédiatrie
 Psychiatrie
 Chirurgie – Pédiatrique
 Pharmacie Galénique
 Parasitologie
 Radiothérapie
 Psychiatrie
 Endocrinologie
 Psychiatrie
 Pneumo – Phtisiologie
 Biochimie
 Pneumo – Phtisiologie



Pr. AIT HOUSSA Mahdi*
 Pr. AMHAJJI Larbi*
 Pr. AOUI Sarra
 Pr. BAITE Abdelouahed*
 Pr. BALOUCH Lhousaine*
 Pr. BENZIANE Hamid*
 Pr. BOUTIMZINE Nourdine
 Pr. CHARKAOUI Naoual*
 Pr. EHIRCHIOU Abdelkader*
 Pr. ELABSI Mohamed
 Pr. EL MOUSSAOUI Rachid
 Pr. EL OMARI Fatima
 Pr. GHARIB Noureddine
 Pr. HADADI Khalid*
 Pr. ICHOU Mohamed*
 Pr. ISMAILI Nadia
 Pr. KEBDANI Tayeb
 Pr. LALAOU SALIM Jaafar*
 Pr. LOUZI Lhoussain*
 Pr. MADANI Naoufel
 Pr. MAHI Mohamed*
 Pr. MARC Karima
 Pr. MASRAR Azlarab
 Pr. MRABET Mustapha*
 Pr. MRANI Saad*
 Pr. OUZZIF Ez zohra*
 Pr. RABHI Monsef*
 Pr. RADOUANE Bouchaib*
 Pr. SEFFAR Myriame
 Pr. SEKHSOKH Yessine*
 Pr. SIFAT Hassan*
 Pr. TABERKANET Mustafa*
 Pr. TACHFOUTI Samira
 Pr. TAJDINE Mohammed Tariq*
 Pr. TANANE Mansour*
 Pr. TLIGUI Houssain
 Pr. TOUATI Zakia

Décembre 2007

Pr. DOUHAL ABDERRAHMAN

Décembre 2008

Pr ZOUBIR Mohamed*
 Pr TAHIRI My El Hassan*

Mars 2009

Chirurgie cardio vasculaire
 Traumatologie orthopédie
 Parasitologie
 Anesthésie réanimation **Directeur ERSM**
 Biochimie-chimie
 Pharmacie clinique
 Ophtalmologie
 Pharmacie galénique
 Chirurgie générale
 Chirurgie générale
 Anesthésie réanimation
 Psychiatrie
 Chirurgie plastique et réparatrice
 Radiothérapie
 Oncologie médicale
 Dermatologie
 Radiothérapie
 Anesthésie réanimation
 Microbiologie
 Réanimation médicale
 Radiologie
 Pneumo phtisiologie
 Hématologie biologique
 Médecine préventive santé publique et hygiène
 Virologie
 Biochimie-chimie
 Médecine interne
 Radiologie
 Microbiologie
 Microbiologie
 Radiothérapie
 Chirurgie vasculaire périphérique
 Ophtalmologie
 Chirurgie générale
 Traumatologie orthopédie
 Parasitologie
 Cardiologie



Ophtalmologie

Anesthésie Réanimation
 Chirurgie Générale

Pr. ABOUZAHIR Ali*
 Pr. AGDR Aomar*
 Pr. AIT ALI Abdelmounaim*
 Pr. AIT BENHADDOU El hachmia
 Pr. AKHADDAR Ali*
 Pr. ALLALI Nazik
 Pr. AMINE Bouchra
 Pr. ARKHA Yassir
 Pr. BELYAMANI Lahcen*
 Pr. BJIJOU Younes
 Pr. BOUHSAIN Sanae*
 Pr. BOUI Mohammed*
 Pr. BOUNAIM Ahmed*
 Pr. BOUSSOUGA Mostapha*
 Pr. CHAKOUR Mohammed *
 Pr. CHTATA Hassan Toufik*
 Pr. DOGHMI Kamal*
 Pr. EL MALKI Hadj Omar
 Pr. EL OUENNASS Mostapha*
 Pr. ENNIBI Khalid*
 Pr. FATHI Khalid
 Pr. HASSIKOU Hasna *
 Pr. KABBAJ Nawal
 Pr. KABIRI Meryem
 Pr. KARBOUBI Lamya
 Pr. L'KASSIMI Hachemi*
 Pr. LAMSAOURI Jamal*
 Pr. MARMADE Lahcen
 Pr. MESKINI Toufik
 Pr. MESSAOUDI Nezha *
 Pr. MSSROURI Rahal
 Pr. NASSAR Ittimade
 Pr. OUKERRAJ Latifa
 Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani *

PROFESSEURS AGREGES :
Octobre 2010

Pr. ALILOU Mustapha
 Pr. AMEZIANE Taoufiq*
 Pr. BELAGUID Abdelaziz
 Pr. BOUAITY Brahim*
 Pr. CHADLI Mariama*
 Pr. CHEMSI Mohamed*
 Pr. DAMI Abdellah*
 Pr. DARBI Abdellatif*
 Pr. DENDANE Mohammed Anouar
 Pr. EL HAFIDI Naima
 Pr. EL KHARRAS Abdennasser*
 Pr. EL MAZOUZ Samir
 Pr. EL SAYEGH Hachem

Médecine interne
 Pédiatrie
 Chirurgie Générale
 Neurologie
 Neuro-chirurgie
 Radiologie
 Rhumatologie
 Neuro-chirurgie
 Anesthésie Réanimation
 Anatomie
 Biochimie-chimie
 Dermatologie
 Chirurgie Générale
 Traumatologie orthopédique
 Hématologie biologique
 Chirurgie vasculaire périphérique
 Hématologie clinique
 Chirurgie Générale
 Microbiologie
 Médecine interne
 Gynécologie obstétrique
 Rhumatologie
 Gastro-entérologie
 Pédiatrie
 Pédiatrie
 Microbiologie **Directeur Hôpital My Ismail**
 Chimie Thérapeutique
 Chirurgie Cardio-vasculaire
 Pédiatrie
 Hématologie biologique
 Chirurgie Générale
 Radiologie
 Cardiologie
 Pneumo-phtisiologie



Anesthésie réanimation
 Médecine interne
 Physiologie
 ORL
 Microbiologie
 Médecine aéronautique
 Biochimie chimie
 Radiologie
 Chirurgie pédiatrique
 Pédiatrie
 Radiologie
 Chirurgie plastique et réparatrice
 Urologie

Pr. ERRABIH Ikram
 Pr. LAMALMI Najat
 Pr. MOSADIK Ahlam
 Pr. MOUJAHID Mountassir*
 Pr. NAZIH Mouna*
 Pr. ZOUAIDIA Fouad

Gastro entérologie
 Anatomie pathologique
 Anesthésie Réanimation
 Chirurgie générale
 Hématologie biologique
 Anatomie pathologique

Mai 2012

Pr. AMRANI Abdelouahed
 Pr. ABOUELALAA Khalil*
 Pr. BELAIZI Mohamed*
 Pr. BENCHEBBA Driss*
 Pr. DRISSI Mohamed*
 Pr. EL ALAOUI MHAMDI Mouna
 Pr. EL KHATTABI Abdessadek*
 Pr. EL OUAZZANI Hanane*
 Pr. ER-RAJI Mounir
 Pr. JAHID Ahmed
 Pr. MEHSSANI Jamal*
 Pr. RAISSOUNI Maha*

Chirurgie Pédiatrique
 Anesthésie Réanimation
 Psychiatrie
 Traumatologie Orthopédique
 Anesthésie Réanimation
 Chirurgie Générale
 Médecine Interne
 Pneumophtisiologie
 Chirurgie Pédiatrique
 Anatomie pathologique
 Psychiatrie
 Cardiologie



Février 2013

Pr. AHID Samir
 Pr. AIT EL CADI Mina
 Pr. AMRANI HANCHI Laila
 Pr. AMOUR Mourad
 Pr. AWAB Almahdi
 Pr. BELAYACHI Jihane
 Pr. BELKHADIR Zakaria Houssain
 Pr. BENCHEKROUN Laila
 Pr. BENKIRANE Souad
 Pr. BENNANA Ahmed*
 O.
 Pr. BENSGHIR Mustapha*
 Pr. BENYAHIA Mohammed*
 Pr. BOUATIA Mustapha
 Pr. BOUABID Ahmed Salim*
 Pr. BOUTARBOUCH Mahjouba
 Pr. CHAIB Ali*
 Pr. DENDANE Tarek
 Pr. DINI Nouzha*
 Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Mohamed Ali
 Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Najwa
 Pr. ELFATEMI Nizare
 Pr. EL GUERROUJ Hasnae
 Pr. EL HARTI Jaouad
 Pr. EL JOUDI Rachid*

Pharmacologie – Chimie
 Toxicologie
 Gastro-Entérologie
 Anesthésie Réanimation
 Anesthésie Réanimation
 Réanimation Médicale
 Anesthésie Réanimation
 Biochimie-Chimie
 Hématologie biologique
 Informatique Pharmaceutique

Anesthésie Réanimation
 Néphrologie
 Chimie Analytique
 Traumatologie Orthopédie
 Anatomie
 Cardiologie
 Réanimation Médicale
 Pédiatrie
 Anesthésie Réanimation
 Radiologie
 Neuro-Chirurgie
 Médecine Nucléaire
 Chimie Thérapeutique
 Toxicologie

Pr. EL KABABRI Maria
 Pr. EL KHANNOUSSI Basma
 Pr. EL KHLOUFI Samir
 Pr. EL KORAICHI Alae
 Pr. EN-NOUALI Hassane*
 Pr. ERRGUIG Laila
 Pr. FIKRI Meryim
 Pr. GHFIR Imade
 Pr. IMANE Zineb
 Pr. IRAQI Hind
 Pr. KABBAJ Hakima
 Pr. KADIRI Mohamed*
 Pr. LATIB Rachida
 Pr. MAAMAR Mouna Fatima Zahra
 Pr. MEDDAH Bouchra
 Pr. MELHAOUI Adyl
 Pr. MRABTI Hind
 Pr. NEJJARI Rachid
 Pr. OUBEJJA Houda
 Pr. OUKABLI Mohamed*
 Pr. RAHALI Younes
 Pr. RATBI Ilham
 Pr. RAHMANI Mounia
 Pr. REDA Karim*
 Pr. REGRAGUI Wafa
 Pr. RKAIN Hanan
 Pr. ROSTOM Samira
 Pr. ROUAS Lamiaa
 Pr. ROUIBAA Fedoua*
 Pr. SALIHOUN Mouna
 Pr. SAYAH Rochde
 Pr. SEDDIK Hassan*
 Pr. ZERHOUNI Hicham
 Pr. ZINE Ali*

Pédiatrie
 Anatomie Pathologie
 Anatomie
 Anesthésie Réanimation
 Radiologie
 Physiologie
 Radiologie
 Médecine Nucléaire
 Pédiatrie
 Endocrinologie et maladies métaboliques
 Microbiologie
 Psychiatrie
 Radiologie
 Médecine Interne
 Pharmacologie
 Neuro-chirurgie
 Oncologie Médicale
 Pharmacognosie
 Chirurgie Pédiatrique
 Anatomie Pathologique
 Pharmacie Galénique
 Génétique
 Neurologie
 Ophtalmologie
 Neurologie
 Physiologie
 Rhumatologie
 Anatomie Pathologique
 Gastro-Entérologie
 Gastro-Entérologie
 Chirurgie Cardio-Vasculaire
 Gastro-Entérologie
 Chirurgie Pédiatrique
 Traumatologie Orthopédie

Avril 2013

Pr. EL KHATIB Mohamed Karim*
 Pr. GHOUNDALE Omar*
 Pr. ZYANI Mohammad*

Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
 Urologie
 Médecine Interne

***Enseignants Militaires**



MARS 2014

ACHIR ABDELLAH
BENCHAKROUN MOHAMMED
BOUCHIKH MOHAMMED
EL KABBAJ DRISS
EL MACHTANI IDRISSE SAMIRA
HARDIZI HOUYAM
HASSANI AMALE
HERRAK LAILA
JANANE ABDELLA TIF
JEAIDI ANASS
KOUACH JAOUAD
LEMNOUER ABDELHAY
MAKRAM SANAA
OULAHYANE RACHID
RHISSASSI MOHAMED JMFAR
SABRY MOHAMED
SEKKACH YOUSSEF
TAZL MOUKBA. :LA.KLA.

***Enseignants Militaires**

DECEMBRE 2014

ABILKACEM RACHID'
AIT BOUGHIMA FADILA
BEKKALI HICHAM
BENAZZOU SALMA
BOUABDELLAH MOUNYA
BOUCHRIK MOURAD
DERRAJI SOUFIANE
DOBLALI TAOUFIK
EL AYOUBI EL IDRISSE ALI
EL GHADBANE ABDEDAIM HATIM
EL MARJANY MOHAMMED
FEJJAL NAWFAL
JAHIDI MOHAMED
LAKHAL ZOUHAIR
OUDGHIRI NEZHA
Rami Mohamed
SABIR MARIA
SBAI IDRISSE KARIM

***Enseignants Militaires**

Chirurgie Thoracique
Traumatologie- Orthopédie
Chirurgie Thoracique
Néphrologie
Biochimie-Chimie
Histologie- Embryologie-Cytogénétique
Pédiatrie
Pneumologie
Urologie
Hématologie Biologique
Génécologie-Obstétrique
Microbiologie
Pharmacologie
Chirurgie Pédiatrique
CCV
Cardiologie
Médecine Interne
Génécologie-Obstétrique

Pédiatrie
Médecine Légale
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Maxillo-Faciale
Biochimie-Chimie
Parasitologie
Pharmacie Clinique
Microbiologie
Anatomie
Anesthésie-Réanimation
Radiothérapie
Chirurgie Réparatrice et Plastique
O.R.L
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Pédiatrique
Psychiatrie
Médecine préventive, santé publique et Hyg.



AOUT 2015

Meziane meryem
Tahri latifa

Dermatologie
Rhumatologie

JANVIER 2016

BENKABBOU AMINE
EL ASRI FOUAD
ERRAMI NOUREDDINE
NITASSI SOPHIA

Chirurgie Générale
Ophtalmologie
O.R.L
O.R.L

2- ENSEIGNANTS – CHERCHEURS SCIENTIFIQUES

PROFESSEURS / PRs. HABILITES

Pr. ABOUDRAR Saadia
Pr. ALAMI OUHABI Naima
Pr. ALAOUI KATIM
Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma
Pr. ANSAR M'hammed
Pr. BOUHOUCHE Ahmed
Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz
Pr. BOURJOUANE Mohamed
Pr. CHAHED OUZZANI Lalla Chadia
Pr. DAKKA Taoufiq
Pr. DRAOUI Mustapha
Pr. EL GUESSABI Lahcen
Pr. ETTAIB Abdelkader
Pr. FAOUZI Moulay El Abbes
Pr. HAMZAOUI Laila
Pr. HMAMOUCHE Mohamed
Pr. IBRAHIMI Azeddine
Pr. KHANFRI Jamal Eddine
Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Med
Pr. REDHA Ahlam
Pr. TOUATI Driss
Pr. ZAHIDI Ahmed
Pr. ZELLOU Amina

Physiologie
Biochimie – chimie
Pharmacologie
Histologie-Embryologie
Chimie Organique et Pharmacie Chimique
Génétique Humaine
Applications Pharmaceutiques
Microbiologie
Biochimie – chimie
Physiologie
Chimie Analytique
Pharmacognosie
Zootechnie
Pharmacologie
Biophysique
Chimie Organique
Biologie moléculaire
Biologie
Chimie Organique
Chimie
Pharmacognosie
Pharmacologie
Chimie Organique

*Mise à jour le 14/12/2016 par le
Service des Ressources Humaines*





Dédicaces

A MES CHERS PARENTS

Badia et abdelmajid

Aux deux êtres chers qui m'ont prodigué tant d'amour, d'affection et de bonheur ; qui ont fait tant de sacrifices pour mon éducation et mes études ; qui m'ont comblé par leur soutien et leur générosité et qui continuent à m'entourer de leur ample affection.

Aucun merci ne saurait exprimer mon amour, et ma forte reconnaissance!

Vous faites certainement partie de ce travail!

Que Dieu vous protège!

A mon fiancé

Faiçal

*Aucun mot ne saurait exprimer
mes sentiments les plus profonds envers toi.
ton soutien, ta gentillesse sans égale, ton profond attachement m'ont
permis de réussir mes études.
Que ce travail soit le témoignage
de ma reconnaissance et de mon amour sincère et fidèle.*

A mon cher frère : YASSIR

Acceptez ce modeste travail en témoignage de ma profonde affection et de mon amour. Tu nous manque énormément.

A mes chères sœurs

SALMA ET LINA

L'amour que je vous porte est sans égal.

Je vous dédie ce travail avec la plus grande reconnaissance, et la profonde affection.

Que dieu vous protège et vous assure une bonne santé et une longue et heureuse vie.

A mes amis

Hasna, Kenza, Nadia, Imane, Khadija et aya

*En souvenir des moments agréables passés ensemble, veuillez trouver dans
ce travail l'expression de ma tendre affection et mes sentiments les plus
respectueux avec mes vœux de succès, de bonheur et de bonne santé*



Remerciements

A MON MAÎTRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

Monsieur le Professeur MASRAR Azlarab

Professeur d'Hématologie biologique

*A l'honneur que vous nous faites en acceptant de présider le jury de notre
thèse est pour nous l'occasion de vous témoigner notre profonde
reconnaissance pour vos qualités humaines.*

Veillez trouvez ici, l'expression de notre grande estime.

A MON MAITRE ET RAPORTEUR DE THESE

Madame le professeur NAZIH mouna

Professeur d'hématologie biologique

*Malgré vos multiples obligations, vous avez accepté d'encadrer ce travail ;
nous vous en sommes profondément reconnaissants.*

*Vos orientations ont permis à ce travail de voir le jour ; vos remarques
judicieuses ont permis de l'affiner.*

Ce travail, c'est le votre ; il serait incongru de vous en remercier.

*Croyez seulement à notre sincère reconnaissance pour votre gentillesse et
votre disponibilité*

A MON MAÎTRE ET JUGE DE THÈSE

Madame le professeur BENKIRANE Souad

Professeur d'hématologie biologique

*Nous sommes profondément touchés par votre gentillesse et la spontanéité
de votre accueil.*

*Nous vous remercions pour l'honneur que vous nous faites en acceptant de
juger cette thèse.*

Veillez trouver ici l'expression de nos sincères remerciements.

A MON MAITRE ET JUGE DE THESE

Monsieur le professeur DAMI Abdellah

Professeur de Biochimie

Vous avez accepté avec grande amabilité de juger cette thèse.

*Cet honneur nous touche infiniment et nous tenons à vous exprimer nos
sincères remerciements et notre profond respect.*

A NOTRE MEMBRE ASSOCIE

Monsieur le professeur KHALLOUFI abdelazize

Professeur assistant en hématologie biologique

*Nous avons l'honneur de vous compter parmi les membres du jury de notre
thèse.*

*Veuillez trouver dans ce travail, l'expression de notre profond respect et nos
vifs remerciements*



Liste des abréviations

Abbreviations

AAH	: anticorps anti-histones.
AAN	: anticorps antinucléaire.
AC	: anticorps.
ACL	: anticorps anticardioplipinique.
ADCC	: cytotoxicité dépendante des anticorps
ADNdb	: acide désoxyribonucléique bicaténaire ou double brin
AKA	: anticorps anti kératine
AMM	: autorisation de mise sur le marché
ANCA	: antineutrophil cytoplasmic antibodies.
ANS	: antigènes nucléaires solubles
APC	: cellules presentatrice d'antigène
APCC	: AC antipeptidocitruliné
APF	: facteur anti-perinucleaire
APL	: anticorps antiphospholipide.
AVK	: antivitamine K.
BLyS	: B Lymphocyte Stimulator
BPI	: bactericidal permeability increasing protein
BSA	: sérum-albumine bovine
CBP	: cirrhose biliaire primitive.

CCP	: Peptides Cycliques Citrullinés
CIEP	: contre-immunoélectrophorèse
CL	: Crithidia luciliae
CMH	: complexe majeur d'histocompatibilité
CPK	: créatine phosphokinase
CSS	: syndrome de Churg-Strauss
ELISA	: enzyme-linked-immunosorbent assay
ENA	: Extractable nuclear antigen ou antigènes nucléaires solubles
FIA	: fluorescence enzyme immunoassay
FR	: Les facteurs rhumatoïdes
GABA	: acide gamma-aminobutyrique
GP	: glycoprotéine
GPL	: glycopeptidolipid
H	: homogène
HAI	: Hépatopathies auto-immunes
HBPM	: héparine de bas poids moléculaire
HEp-2	: human epithelial cell line type 2
HLA	: human leukocyte antigen
IDD	: immunodiffusion double d'ouchterlony
IFI	: immunofluorescence indirecte
IgIV	: immunoglobulines intraveineuses

INR	: International Normalized Ratio
LA	: lupus anticoagulants ou anticoagulant circulant lupique.
LB	: Lymphocyte B
LED	: lupus érythémateux disséminé
LES	: lupus érythémateux systémique
LNH	: lymphome non Hodgkinien
LT	: lymphocytes T
M	: moucheté
MAIS	: Maladies auto-immunes systémiques
MG	: <i>myasthenia</i> gravis ou myasthénie grave
MICI	: Maladies inflammatoires chroniques de l'intestin
MPO	: myéloperoxydase
MuSK	: Muscle Spécific Kinase
MW	: maladie de Wegener
NK	: Natural Killer
NuMA	: Nuclear Mitotic Apparitus
OMS	: Organisation mondiale de la santé
p.ex	: par exemple
PAD	: Peptidyl arginine deiminase
PAN	: Périartérite noueuse
PBS	: Phosphate-buffered saline ou tampon phosphate salin

PLA2R	: Phospholipase A2 receptor
PM/DM	: polymyosite/dermatomyosite
PNN	: polynucléaire neutrophile
PR	: polyarthrite rhumatoïde
PR3	: protéinase 3
PTAI	: purpura thrombopénique auto-immune
RNP	: ribonucleoprotéine
SAPL	: syndrome des antiphospholipides
SDS	: laurylsulfate de sodium ou dodécylsulfate de sodium
SEP	: sclérose en plaques
SGS	: syndrome de Gougerot-Sjogren
SLA	: Soluble Liver Antigen
SS	: Sclérodémie systémique
TC virus	: T-cell lymphotropic virus
TCA	: temps de céphaline activé
TCE	: trichloroéthylène
TCK	: temps de céphaline kaolin
TNFα	: facteur de nécrose des tumeurs α
TSH	: ThreoStimulation Hormone
VAA	: vascularite associée aux ANCA



Liste des illustrations

Liste des figures

Figure 1 : Tolérance centrale des lymphocytes T	16
Figure 2 : suppression des réponses immunitaires par les lymphocytes T.....	18
Figure 3 : Sélection négative des lymphocytes B dans la moelle osseuse	21
Figure 4 : Auto-immunité par un antigène microbien : notion de «mimétisme moléculaire».....	23
Figure 5 : marquage par immunofluorescence directe ou indirecte d'un antigène de membrane.....	41
Figure 6 : conduit pratique à la recherche d'anticorps anti-nucléaires	50
Figure 7 : aspect négatif	57
Figure 8 : aspect centromère.....	57
Figure 9 : aspect homogène.....	58
Figure 10 : Aspect moucheté	58
Figure 11 : Aspect nucléolaire	59
Figure 12 : AC Anti-Sc170.....	59
Figure 13 : AC anti-PMscl.....	60
Figure 14 : AC anti-fibrillarine	60
Figure 15 : AC anti-membrane nucléaire	61
Figure 16 : différentes formes d'ADNdb reconnues par les auto-anticorps.....	65
Figure 17 : : aspect négatif (fluorescence du corps parabasal et non du kinétoplaste).....	69

Figure 18 : aspect Positif (fluorescence intense du kinétoplaste)	69
Figure 19 : Représentation schématique d'un nucléosome et de la liaison entre 2 nucléosomes.....	72
Figure 20 : Immunodiffusion double d'Ouchterlony pour la recherche et l'identification d'anticorps anti-antigènes nucléaires solubles	76
Figure 21 : Aspect cytoplasmique c-ANCA.....	83
Figure 22 : Aspect périnucléaire p-ANCA.....	84
Figure 23 : Aspect périnucléaire atypique a-ANCA	85
Figure 24 : Stratégie de détection des ANCA	87
Figure 25 : Les diverses cibles antigéniques des anticorps antiphospholipides	89
Figure 26 : stratégie de recherche des anticorps antiphospholipides en cas de suspension clinique	98
Figure 27 : Aspects des Ac anti-M2 par IFI sur substrat estomac/foie/rein de rat : marquage des cellules pariétales gastriques, et des tubules distaux > tubules proximaux	102
Figure 28 : Ac anti-mitochondries de type 10 , IFI sur triple substrat : marquage des tubules distaux	102
Figure 29 : AC antiM5 , aspect en IFI sur rein de rat : marquage des tubules proximaux et distaux d'intensité	103
Figure 30 : AC an-M5, aspect IFI sur estomac de rat : marquage des cellules du collet	103

Figure 31 : Aspects des Ac anti-M2 ou AMA sur cellules Hep-2: marquage granulaire filamenteux cytoplasmique.	104
Figure 32 : détection des anticorps anti-mitochondries de types 2 par immunotrasfert.	106
Figure 33 : Citrullination par le peptidyl arginine déiminase	113
Figure 34 : Anticorps dirigés contre le stratum corneum dit « antikératine ». La fluorescence (flèche) est localisée au niveau de la couche cornée de l'épithélium d'œsophage de rat	116
Figure 35 : Facteurs périnucléaires révélés par immunofluorescence indirecte (IFI). Granules fluorescents (flèches) à la périphérie d'une cellule jugale humaine	117
Figure 36 : Anticorps non spécifique d'organe	120
Figure 37 : Apoptose induite par le rituximab (anti-CD20) : l'activation de l'apoptose est liée essentiellement à la voie mitochondriale (cytochrome C). Le rituximab est aussi capable de réduire l'expression de molécule antiapoptotique (Bcl2, XIAP, Mcl-1)	137
Figure 38 : Cytotoxicité dépendante du complément (CDC ou Complement dependant cytotoxicity) induite par le rituximab (anti-CD20) : le rituximab qui est une IgG1 active le complément par son fragment Fc. Le complément activé est régulé par des protéines inhibitrices	138

Liste des tableaux

Tableau 1 : incidence, prévalence et distribution par sexe des différents maladies auto-immunes.....	9
Tableau 2 : l'incidence annuel de vascularite systémique.....	10
Tableau 3 : mécanismes effecteurs de l'auto-immunité	28
Tableau 4 : principales maladies auto-immunes spécifiques d'organes, et auto-anticorps associés.....	32
Tableau 5 : maladies auto-immunes systémique et leur principales caractéristiques.....	34
Tableau 6 : Noms et définitions des vascularites adoptés par la conférence de consensus pour la nomenclature des vascularites systémiques à Chapel Hill, Caroline du Nord, États-Unis, 1993.....	36
Tableau 7 : anticorps marqueurs de MAI reconnus comme critères de classification/diagnostiques internationaux	38
Tableau 8 : anticorps antinucléaires dépistés en immunofluorescence : cible et intérêt en pratique médicale.....	63
Tableau 9 : Caractéristiques des principales méthodes de détection des Ac anti-ADNdb.....	66
Tableau 10 : types d'anticorps anti-mitochondries et maladies associées	99



Sommaire

Introduction	1
I. Historique	3
II. Epidémiologie	6
1. Incidence et prévalence	7
2. SEXE RATIO	10
3. Facteurs génétiques	11
4. Facteurs environnementaux	12
III. Physiopathologie	13
1. Tolérance immunitaire : signification et mécanismes	14
1.1. Tolérance des lymphocytes T	14
1.1.1. Tolérance centrale des lymphocytes T.	14
1.1.2. Tolérance périphérique des lymphocytes T	16
1.2. Tolérance des lymphocytes B.....	19
1.2.1. Tolérance centrale des lymphocytes B.....	20
1.2.2. Tolérance périphérique des lymphocytes B.	21
2. Mécanisme de l'auto-immunisation.....	22
2.1. Rupture de tolérance LB.....	22
2.2. Auto-immunisation cellulaire	24
2.2.1. LE DEVELOPPEMENT DES LT	24
2.2.2. Modification de la balance cytokinique.	25

2.2.3. Lymphocytes T régulateurs.	25
3. Mécanismes effecteurs	26
IV. Classification des maladies auto-immunes	29
1. Maladie auto-immunes spécifiques d'organes	30
2. Maladie auto-immunes non spécifiques d'organes	33
V. Diagnostique biologique des MAIS.....	37
1. Stratégies de diagnostique	39
1.1. Technique de dépistage : L'immunofluorescence indirecte	39
1.2. Techniques d'identification	42
1.2.1. ELISA.....	43
1.2.2. Immunodot.....	44
1.2.3. Les autres méthodes	45
1.3. L'importance de l'antigène utilisé	46
2. Recherche des anticorps	49
2.1. Anticorps antinucléaires	49
2.1.1. Dépistage des anticorps anti-nucléaires	51
i Immunofluorescence indirecte sur culture de cellules ou coupe d'organe	51
ii Autres techniques de dépistage des anticorps anti-nucléaires	64
2.1.2. Identification des anticorps anti-nucléaires.....	64
A Anticorps anti-ADN.....	64

i	Test de Farr.....	66
ii	L'immunofluorescence indirecte sur <i>Crithidia luciliae</i>	67
iii	Tests ELISA	70
iv	Immunodot	70
B	Ac anti-nucléosomes	71
C	Anticorps anti-histones	73
D	Anticorps anti-antigènes nucléaires solubles	74
a.	Précipitation en milieu gélifié.....	75
(i)	Immunodiffusion double d'Ouchterlony (IDD)	76
(ii)	L'électrosynérèse	78
b.	Technique ELISA	78
c.	Immunodot.....	79
d.	Immunotransfert.....	80
2.2.	Anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles (ANCA) ..	80
2.2.1.	Recherche des ANCA	81
2.2.2.	Résultats et interprétation	82
2.2.3.	Identifier les Ag cibles	86
2.3.	Auto- anticorps antiphospholipides	88
2.3.1.	Recherche et interprétation	89
i.	Anticoagulants circulants lupiques	89
ii.	Anticorps anti-cardiolipine.....	90

iii. Anticorps anti- β 2GPI.....	92
iv. Anticorps anti-cardiolipine et anti- β 2GPI d'isotype IgA.....	93
v. Autres autoanticorps	93
a/ Les anticorps anti-phosphatidyléthanolamine.....	93
b/ Les anticorps anti-prothrombine.....	94
2.3.2. Recommandations	94
2.3.3. Critères diagnostiques du SAPL	95
2.4. Anticorps anti-mitochondries	98
2.4.1. Techniques de recherche	101
2.4.2. Techniques d'identification de seconde intention	104
A. IFI sur cellules Hep-2	104
B. Immunotransfert	105
2.5. Le facteur rhumatoïde (FR)	106
2.5.1. Méthodes d'agglutination passive	107
a- Réaction de Waaler-Rose.....	108
b- Réactions de Waaler-Rose modifiées.....	109
c-Test au latex.....	109
2.5.2. Méthodes de précipitation : turbidimétrie – néphélémétrie	110
2.5.3. Méthodes immunoenzymatiques	111
2.6. Les auto-anticorps anti-protéines et anti-peptides citrullinés	112

2.6.1. Immunofluorescence indirecte anti-stratum corneum (« anti-kératine») et anti-périnucléaires.	115
A. Recherche des anticorps antikératine (AKA).....	115
B. Recherche des anticorps anti-périnucléaires	116
2.6.2. Immunotransfert anti-filagrine.....	117
2.6.3. ELISA anti-cyclic citrullinated peptide (anti-CCP)	118
2.6.4. Autres méthodes utilisant des auto-anti-gènes citrullinés.....	119
3. L'interprétation des résultats	121
VI. Traitement	123
1. Corticothérapie	124
1.1. Modalités de prescription	124
1.2. Effets secondaires	125
1.3. Bilan à la mise en place d'une corticothérapie générale prolongée ...	128
1.4. Mesures diététique	129
2. Les immunosuppresseurs	129
2.1. Azathioprine	130
2.2. Cyclophosphamide	131
2.3. Méthotrexate	132
2.4. léflunomide	133
2.5. Ciclosporine A	134
2.6. mycophenolate mofetil	135

3. Nouvelles approches thérapeutique	136
3.1. Les inhibiteurs des lymphocytes B	136
3.2. Les inhibiteurs de la Co-stimulation	140
3.3. Inhibiteurs spécifiques des lymphocytes T	141
3.4. Modulation des cytokines et des chimiokines	142
3.5. Modulation des molécules d'adhésion	143
4. Autre mesures	144
VII. Modalités de surveillance	145
VIII. Conclusion	147
Résumés	
Bibliographie	



Introduction

L'auto-immunité est un phénomène naturel sous le contrôle permanent de différents mécanismes qui maintiennent la tolérance du système immunitaire vis-à-vis des antigènes du soi. C'est la rupture de ces mécanismes de tolérance qui conduirait à l'action pathogène du système immunitaire vis-à-vis de constituants naturels de l'organisme et à l'apparition des maladies auto-immunes.

Les maladies auto-immunes constituent la 3^e cause de morbidité dans les pays développés, avec une prévalence de 5 à 6% de la population générale. Cette prévalence augmente avec le vieillissement de la population[1].

On distingue habituellement les maladies auto-immunes spécifiques d'organe, caractérisées par des lésions limitées à un tissu ou un organe, secondaires à une réponse immune dirigée contre un antigène dont la distribution est limitée à ce tissu (ex : diabète de type 1, thyroïdite auto-immune, hépatopathies auto-immunes, dermatoses bulleuses...) et les maladies auto-immunes non spécifiques d'organe, avec atteinte systémique, secondaires à une réponse immune dirigée contre un antigène dont la distribution est ubiquitaire (ex : lupus érythémateux systémique ou LES, syndrome de Gougerot Sjögren ou SGS, polyarthrite rhumatoïde ou PR, sclérodermies, myosites, vascularites).

Le diagnostic des maladies auto-immunes repose sur un faisceau d'arguments cliniques et biologiques, dont la présence d'auto-anticorps. Les auto-anticorps contribuent au diagnostic positif ou différentiel des maladies auto-immunes, ainsi qu'à l'évaluation de leur pronostic et au suivi de leur activité ou de leur traitement[2].

Le but de cette recherche n'est certainement pas de passer en revue tous les auto-anticorps utiles au diagnostic des différentes maladies auto-immunes systémiques, mais d'exposer ceux qui sont principalement utilisés en routine dans la pratique clinique, d'en décrire la méthode de détection, et l'interprétation des résultats.



I. Historique

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

Presque en même temps, Landsteiner a décrit les règles de la compatibilité transfusionnelle, et il a démontré l'existence d'isoagglutinines naturelles, toujours dirigées contre l'antigène non exprimé et l'absence constante d'autoanticorps dirigés contre l'antigène exprimé. Ces expériences ont permis de définir le système ABO. Cette découverte fondamentale, jamais contredite à ce jour, a apporté un argument de poids à la notion d'*horror autotoxicus*.

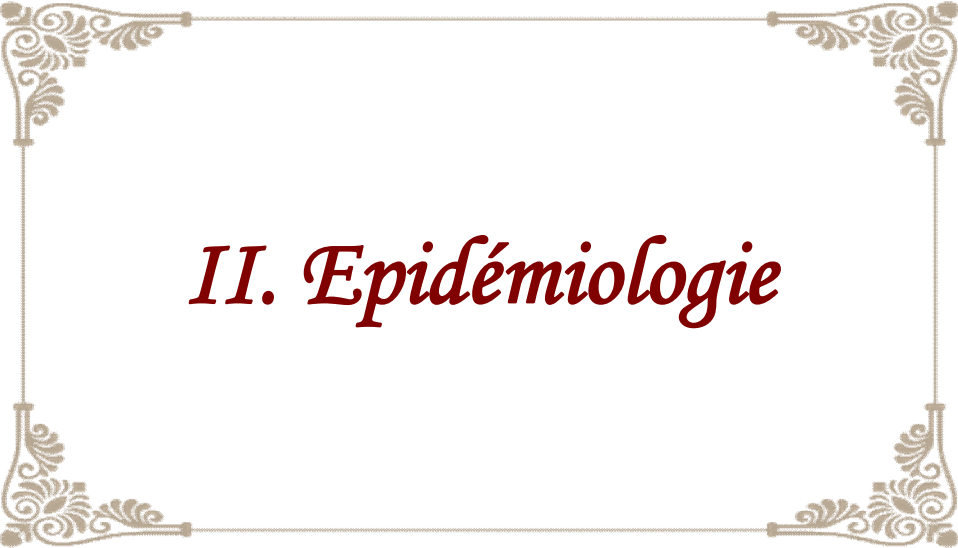
Ce fut l'école pastoriennne, sous la direction d'Elie Metchnikoff, qui la première apporta des preuves de l'existence d'une autoimmunisation. Metchnikoff en 1900, réussit à obtenir des autoanticorps antispermatozoïdes, en immunisant des cobayes à l'aide de spermatozoïdes d'autres cobayes. Ainsi, pendant 50 ans la possibilité d'un processus autoaggressif fût exclue[3]

Les expériences conduites par Owen en 1945 suivies par celles de Medawar ont eu une influence considérable dans l'élaboration de la théorie de la délétion clonale par le groupe de McFarlane Burnet. L'interprétation de Burnet et Medawar, a été que l'organisme doit acquérir la capacité de discriminer le soi du non soi pendant la vie embryonnaire et que les clones autoréactifs sont éliminés pendant la vie fœtale. Cette interprétation a permis de forger le concept de tolérance [4].

En 1948, Hargraves M.M. a décrit les cellules LE (cellules de Hargraves) sur frottis de patients atteints de LED. Ce phénomène se produit lors de la présence d'Ac anti-ADN. La cellule LE a été longtemps considérée comme marqueur du lupus détrônée par IFI.

Vers 1954, Weller et Coons ont introduit la méthode d'IFI qui va révolutionner le dépistage des auto-Ac anti-tissulaires. Et en 1958, le test de FARR a été utilisé pour la détection des Ac anti-ADN natif. Avec le progrès des méthodes immunologiques (ELISA et immunoblot), les découvertes d'auto-Ac s'accélérent.

A la fin des années 1950, Burnet, en établissant une base clonale à la différenciation des lymphocytes, proposa que les clones autoréactifs soient éliminés au cours de l'ontogenèse. Les maladies auto-immunes ont dès lors été considérées comme liées à un défaut des processus de sélection des répertoires immunitaires. Dès 1965 cependant, Boyden a mis en évidence la présence de clones lymphocytaires T et B dirigés contre des antigènes du soi chez l'animal normal. Les lymphocytes autoréactifs et les auto-anticorps présents chez l'individu sain, ont ensuite été reconnus comme constituant une part importante des répertoires immunitaires exprimés chez le sujet sain.[5]



II. Epidémiologie

1. Incidence et prévalence:

les maladies auto-immunes touchent environ 5 % de la population mondiale, avec 3,0% pour les hommes et 7,1% pour les femmes.[6].

Ces maladies touchent de 7 à 10 % des marocains. Leur fréquence est variable, certaines touchent jusqu'à 10% de la population, telles que les thyroïdites auto-immunes, d'autres sont moins fréquentes comme la polyarthrite rhumatoïde qui touche 1% de la population, ou encore beaucoup plus rare la sclérodermie qui touche 5 personnes sur 10 000[7].

Aux états unis une revue réalisée par Jacobson et al. Sur l'incidence et la prévalence des maladies auto-immunes, pour 24 maladies sélectionnées (tableau 1), l'incidence estimée variait de moins de 1 pour 100 000 personnes/années (p.ex. hépatite active chronique, myasthénie grave, sclérodermie) à plus de 20 pour 100 000 personnes/année (p.ex. polyarthrite rhumatoïde, thyroïdite). La prévalence variait de moins de 5 pour 100 000 (p.ex. hépatite active chronique, uvéite, granulomatose de Wegener) à plus de 500 pour 100 000 (p.ex. maladie de Grave, polyarthrite rhumatoïde, thyroïdite). L'incidence totale estimée est de 90 pour 100 000 personnes/années et la prévalence est de 3.2% peuvent être considérées comme des estimations prudentes car aucune donnée n'est disponible pour certaines maladies (p.ex. psoriasis, syndrome antiphospholipides)[8].

Pour certaines maladies auto-immunes systémiques comme les vascularites systémiques, L'incidence globale est d'environ 10 à 20 par million et la majorité des données sur l'incidence et la prévalence proviennent d'études menées au Royaume-Uni, en France, en Norvège, en Suède et en Allemagne (tableau 2). Dans ces populations, les vascularites systémiques sont légèrement plus fréquent chez les hommes et le pic de survenue chez ceux âgés de 65 à 74 ans[9]. Pour le

lupus systémique Les taux d'incidence varient d'environ 1 à 10 pour 100 000 personnes-années, et les taux de prévalence varient généralement de 20 à 70 pour 100 000[10].

Une autre maladie qui se classe parmi les maladies auto-immunes dites systémiques est la polyarthrite rhumatoïde (PR) qui est le plus fréquent des rhumatismes inflammatoires chroniques. Cette maladie affecte, en effet, près de 150 000 personnes en France dont 75 % sont des femmes, préférentiellement en périménopause. L'âge moyen d'apparition se situe entre 35 et 55 ans[11].

Maladie		Incidence/ 100 000 personnes par an	Prévalence/ 100 000 personnes	Femmes en pourcentage
Addison disease		0.6	14.0	93
Chronic active hepatitis		0.7	0.4	88
Glomerulonephritis	Primary	3.6	40.0	32
	IgA	2.4	23.2	67
Diabetes (type 1)	Age < 20	12.2	192.0	48
	Age 20 and up	8.1	No data	35
Grave disease/ hyperthyroidism	All ages	13.9	1151.5	88
	Ages 10-19	No data	106.9	67
Multiple sclerosis		3.2	58.3	64
Myasthenia gravis		0.4	5.1	73
Myocarditis	All ages	0.1	No data	45
	Ages < 15	4.1	No data	44
Pernicious anemia		No data	150.9	67
Polymyositis /dermatomyositis		1.8	5.1	67
Primary biliary cirrhosis		0.9	3.5	89
Rheumatoid arthritis	Juvenile (age < 16)	17	148	68
	Adult	23.7	860.0	75
Systemic sclerosis (scleroderma)		1.4	4.4	92
Sjogren disease		3.9	14.4	94
Systemic lupus erythematosus		7.3	23.8	88
Thyroiditis/ hypothyroidism	Ages > 19	21.8	791.7	95
	Ages 10-19	No data	532.1	83
Uveitis		18.9	1.7	50
Vitiligo		No data	400.2	52
Wegener granulomatosis		1.0	3.0	51
Primary systemic vasculitis		2.0	14.5	43
Total		90	3225	80

Tableau 1 : incidence, prévalence et distribution par sexe des différents maladies auto-immunes[8].

Incidence / million population / year				
Country	Study	Wegener's Granulomatosis	Churg Strauss syndrome	Microscopic polyangiitis
Norway	Watts et al.	10.5	0.5	2.7
United Kingdom	Watts et al.	10.2	4.2	5.8
Germany	Reinhold-Keller et al.	6.0-12	1	3
Spain	Gonzalez-Gay et al.	4.9	0.9	11.6

Tableau 2 : l'incidence annuel de vascularite systémique[9].

2. SEXE RATIO :

La prévalence des maladies auto-immunes idiopathiques varie entre 3,2 et 9,4% selon les paramètres de l'étude. Les rapports entre les sexes révèlent que de nombreuses maladies auto-immunes ont une prédominance féminine frappante. Ceci est particulièrement vrai pour les maladies auto-immunes systémiques telles que le lupus érythémateux systémique, le syndrome de Sjögren, et la maladie mixte du tissu conjonctif et les maladies spécifiques d'organes comme la cirrhose biliaire primitive, l'hépatite chronique active, et les maladies thyroïdiennes auto-immunes.

Cependant, d'autres affections, y compris les maladies inflammatoires de l'intestin, le diabète de type 1 et la myocardite auto-immune, montrent peu ou pas de prédominance féminine. Bien que plusieurs explications ont été proposées pour expliquer les différences entre les sexes dans les maladies auto-immunes idiopathiques, aucun consensus n'a été atteint. [12]

La prédominance féminine dans l'auto-immunité peut être liée aux hormones sexuelles et / ou aux gènes liés au sexe. Comme le suggèrent des modèles animaux et des études cliniques, dans certaines maladies auto-immunes telles que le LES, l'œstrogène endogène et la prolactine, ainsi que des perturbations endocriniens exogènes peuvent rompre la tolérance et induire un développement de l'auto-immunité. Dans d'autres maladies auto-immunes, telles que MG et RA, la pathogenèse de la maladie ne semble pas être fortement influencée par les hormones sexuelles, ce qui montre le rôle possible d'autres facteurs liés au genre. Le chromosome X et ses altérations peuvent être impliqués dans le développement de l'auto-immunité, mais son rôle nécessite des éclaircissements et des investigations plus approfondies[13].

3. Facteurs génétiques

En dépit de leur grande diversité, les maladies auto-immunes ont certaines caractéristiques communes telles que la prédisposition génétique, pour laquelle il existe des preuves dans toutes les maladies examinées. Le schéma de l'hérédité est complexe, ce qui indique que plusieurs gènes sont impliqués. Bien qu'il soit improbable que les mêmes gènes soient responsables de la prédisposition à toutes les maladies auto-immunes.

Les études génétiques réalisées dans les modèles animaux de MAI ont montré qu'il existait au moins 25 gènes qui peuvent contribuer à une susceptibilité particulière aux MAI. Ces gènes codent principalement pour les protéines du CMH de classe I et de classe II, les cytokines, les récepteurs des cytokines, les protéines impliquées dans la régulation de la réponse immunitaire et dans l'apoptose. Chez l'homme, la présence de certains allèles du CMH de

classe I ou de classe II est associée à une augmentation du risque de survenue de certaines pathologies auto-immunes. Cependant, pour aucune des maladies auto-immunes, la prédisposition génétique conférée par HLA n'est ni suffisante ni nécessaire au développement de la maladie [14].

Il y a également d'autres gènes de susceptibilité comme des gènes codant des facteurs du complément (molécules C1, C4, C2 et connectivites), ou d'autres gènes comme CTLA4 (Cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4) par exemples[15].

4. Facteurs environnementaux :

L'étiologie et la pathogenèse des maladies auto-immunes sont des processus très complexes. La prédisposition génétique et les facteurs environnementaux tels que les produits chimiques, la fumée, l'infection et la nutrition sont impliqués dans le processus pathogène. Les facteurs environnementaux ont beaucoup retenu l'attention ces dernières années pour leur rôle dans le déclenchement de l'auto-immunité, avec des preuves de plus en plus évidentes de leur influence dans les études épidémiologiques et animales. Ces facteurs, notamment le tabagisme, la silice cristalline et l'exposition au trichloroéthylène (TCE), au perchloroéthylène, au mercure, aux pesticides et au pristane, sont considérés comme étant sérieux dans l'étiologie et la progression des MAI tels que le LES, la polyarthrite rhumatoïde, la sclérose systémique et l'hépatite auto-immune[16].

On ne peut pas négliger le rôle possible de médicament. La procainamide par exemple peut déclencher un lupus érythémateux particulier par la présence d'anticorps dirigés contre les histones mais dont l'allure clinique peut être tout à fait superposable à un lupus érythémateux[17].



III. Physiopathologie

1. Tolérance immunitaire : signification et mécanismes

La tolérance immunitaire est une absence de réponse aux antigènes induite par l'exposition des lymphocytes à ces antigènes, trois phénomènes peuvent se produire. En premier lieu, les lymphocytes peuvent être activés, entraînant une réponse immunitaire. Les antigènes qui déclenchent ce type de réponse sont dits immunogènes. En second lieu, les lymphocytes peuvent être inactivés sur le plan fonctionnel ou détruits, permettant ainsi la tolérance. Les antigènes qui induisent une tolérance sont dits tolérogènes. Enfin, dans certaines situations, les lymphocytes spécifiques d'un antigène peuvent ne pas réagir du tout, ce phénomène est désigné par le terme «ignorance», indiquant que les lymphocytes ignorent simplement la présence de l'antigène.

La tolérance immunitaire à différents antigènes du soi peut être induite lorsque les lymphocytes en développement rencontrent ces antigènes dans les organes lymphoïdes primaires (tolérance centrale), ou lorsque les lymphocytes matures rencontrent les antigènes du soi dans les tissus périphériques (tolérance périphérique). La tolérance centrale est un mécanisme de tolérance concernant exclusivement les antigènes du soi qui sont présents dans les organes lymphoïdes primaires, c'est-à-dire la moelle osseuse et le thymus. La tolérance envers les antigènes du soi qui ne sont pas présents dans ces organes doit être induite et maintenue par des mécanismes périphériques.

1.1. Tolérance des lymphocytes T

1.1.1. Tolérance centrale des lymphocytes T.

Les lymphocytes qui se développent dans le thymus sont des cellules présentant des récepteurs capables de reconnaître de nombreux antigènes, à la

fois propres à l'individu et étrangers. Si un lymphocyte immature interagit fortement avec un antigène du soi, présenté sous forme d'un peptide lié à une molécule du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) du soi, ce lymphocyte recevra des signaux déclenchant l'apoptose, et mourra avant d'avoir pu achever sa maturation. Ce processus est également désigné par le terme de « sélection négative » et constitue un mécanisme important de la tolérance centrale. Les lymphocytes immatures peuvent interagir fortement avec un antigène, si celui-ci est présent à des concentrations élevées dans le thymus et si les lymphocytes expriment des récepteurs qui reconnaissent l'antigène avec une haute affinité. Les antigènes qui induisent une sélection négative peuvent comprendre des protéines qui sont abondantes dans tout l'organisme, comme des protéines plasmatiques et des protéines cellulaires communes. Une protéine appelée AIRE (régulateur d'auto-immunité) est responsable de l'expression thymique de ces antigènes protéiques par ailleurs propres à certains tissus. Des mutations du gène *AIRE* sont à l'origine d'un syndrome auto-immun rare portant le nom de polyendocrinopathie auto-immune. Ce processus de sélection négative affecte les lymphocytes T CD4⁺ et les lymphocytes T CD8⁺ autoréactifs. Certains lymphocytes T immatures qui reconnaissent des antigènes du soi dans le thymus ne meurent pas mais se transforment en lymphocytes T régulateurs et gagnent les tissus périphériques (figure 1).

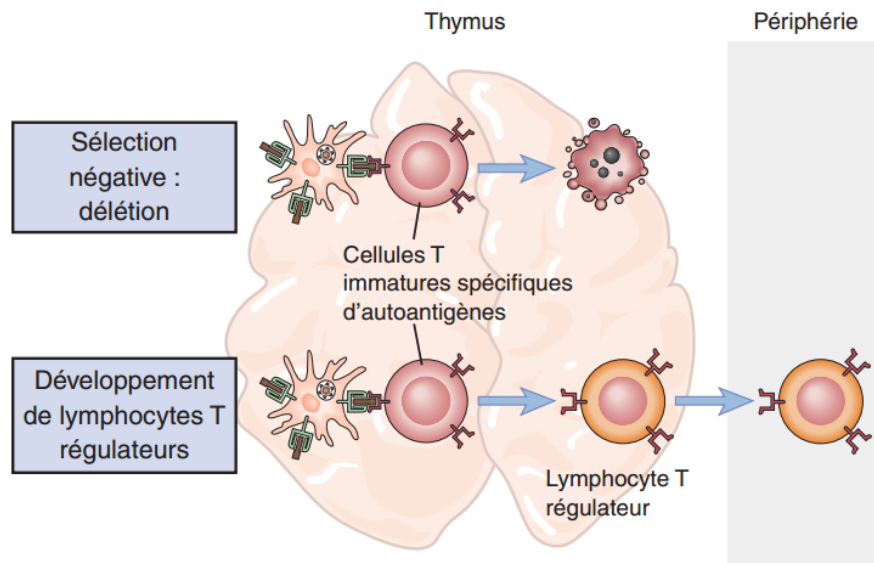


Figure 1 : Tolérance centrale des lymphocytes T [18].

1.1.2. Tolérance périphérique des lymphocytes T

La tolérance périphérique est induite lorsque des lymphocytes matures reconnaissent des antigènes du soi dans les tissus périphériques, entraînant leur inactivation fonctionnelle (anergie) ou leur mort, ou lorsque des lymphocytes autoréactifs sont contrôlés par des lymphocytes T régulateurs. La tolérance périphérique joue un rôle important dans la prévention des réponses des lymphocytes T aux antigènes du soi qui sont présents principalement dans les tissus périphériques, et non dans le thymus.

- Anergie :

L'anergie est définie comme l'inactivation fonctionnelle des lymphocytes T qui survient lorsque ces cellules reconnaissent des antigènes en absence de costimulation d'intensité adéquate (seconds signaux). Les lymphocytes T naïfs nécessitent au moins deux signaux pour proliférer et se différencier en

lymphocytes effecteurs : le signal 1 est toujours l'antigène et le signal 2 est fourni par des molécules de costimulation qui sont exprimées sur les cellules présentatrices d'antigène (APC) professionnelles en réponse à la présence de microbes. Ces APC transforment et présentent en permanence les antigènes du soi qui se trouvent dans les tissus.

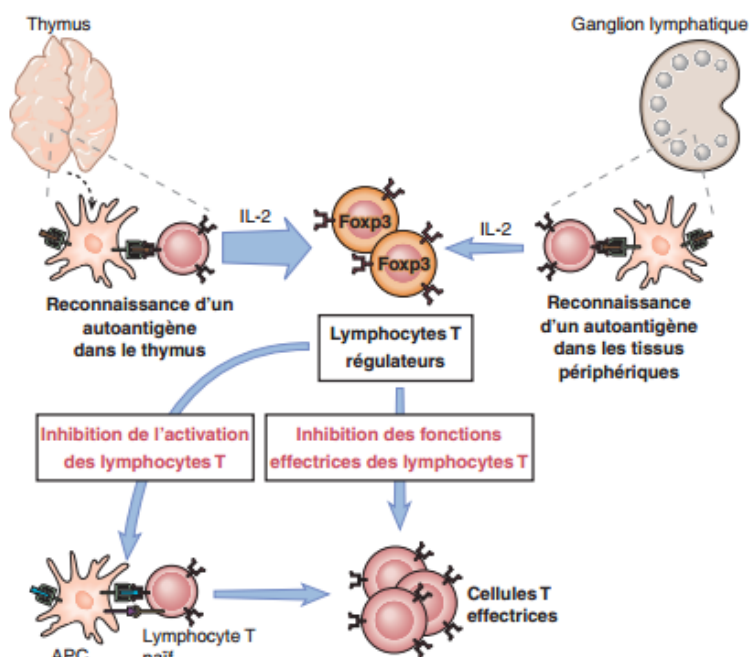
Les lymphocytes T possédant des récepteurs pour les antigènes du soi sont capables de reconnaître ces antigènes et par conséquent reçoivent des signaux de leurs récepteurs d'antigène (signal 1), mais les lymphocytes T ne reçoivent pas une forte costimulation car il n'y a pas de réponse concomitante de l'immunité innée. Dans ces conditions, les récepteurs d'antigène des lymphocytes T (TCR) peuvent perdre leur aptitude à transmettre des signaux activateurs, ou les lymphocytes T nécessaires peuvent engager préférentiellement un de leurs récepteurs inhibiteurs de la famille de CD28, CTLA-4 (*cytotoxic T lymphocyte antigen-4* ou CD152) ou PD-1 (*programmed [cell] death protein-1*). Le résultat est une anergie de longue durée des cellules T.

- Suppression immunitaire par les cellules T régulatrices

Les lymphocytes T régulateurs se développent dans le thymus ou dans les tissus lymphoïdes périphériques lors de leur rencontre avec des autoantigènes ; ils bloquent l'activation des lymphocytes potentiellement dangereux et spécifiques de ces antigènes du soi (figure 2). Une majorité de cellules T régulatrices autoréactives se développent probablement dans le thymus mais ils peuvent aussi se former dans les organes lymphoïdes périphériques. La plupart des cellules T régulatrices sont CD4⁺ et expriment, en forte densité, CD25, la chaîne α du récepteur de l'IL-2. Le développement et la fonction de ces cellules

dépendent d'un facteur de transcription appelé Foxp3. La survie et la fonction des cellules T régulatrices dépendent de la cytokine IL-2.

Nous connaissons peu le mécanisme par lequel les cellules T régulatrices inhibent les réponses immunitaires in vivo. Certaines cellules T régulatrices produisent des cytokines, comme l'IL-10 et le TGF- β , qui bloquent l'activation des lymphocytes et des macrophages. Les lymphocytes régulateurs peuvent également interagir directement avec d'autres lymphocytes ou des APC et les inhiber par des mécanismes encore inconnus qui requièrent des contacts intercellulaires.



Les lymphocytes T CD4 qui reconnaissent des autoantigènes peuvent se différencier en cellules régulatrices dans le thymus ou en tissus périphériques suite d'un processus qui dépend du facteur de transcription Foxp3, et qui requiert l'IL2. Ces cellules régulatrices inhibent l'activation des lymphocytes T naïfs et leur différenciation en cellules T

Figure 2 : suppression des réponses immunitaires par les lymphocytes T[18].

- Délétion : mort cellulaire induite par activation

La reconnaissance d'antigènes du soi peut déclencher les voies de signalisation menant à l'apoptose, ce qui aboutit à l'élimination (délétion) des lymphocytes autoréactifs. Ce processus est appelé « mort cellulaire induite par activation » car il est la conséquence de la reconnaissance antigénique.

Il existe deux mécanismes probables de mort des lymphocytes T matures induite par des autoantigènes. En premier lieu, la reconnaissance de l'antigène induit la production de protéines proapoptotiques dans les cellules T qui induisent la mort cellulaire par la « voie mitochondriale », au cours de laquelle diverses protéines mitochondriales s'échappent et activent des caspases, enzymes cytosoliques qui entraînent l'apoptose. En second lieu, la reconnaissance des autoantigènes peut entraîner la coexpression des récepteurs de mort et de leurs ligands. L'interaction ligand-récepteur génère des signaux passant par le récepteur de mort et qui aboutissent à l'activation des caspases et à l'apoptose par la voie dite des « récepteurs de mort ». Le récepteur de mort le mieux connu est une protéine appelée Fas (CD95), qui est exprimée sur de nombreux types cellulaires, et le ligand de Fas (FasL), qui est exprimé surtout sur les lymphocytes T activés.

1.2. Tolérance des lymphocytes B

Les polysaccharides, les lipides et les acides nucléiques du soi sont des antigènes T-indépendants qui ne sont pas reconnus par les lymphocytes T. Ces antigènes doivent induire une tolérance des lymphocytes B afin de prévenir la production d'auto-anticorps.

1.2.1. Tolérance centrale des lymphocytes B

Lorsque les lymphocytes B immatures interagissent fortement avec des antigènes du soi dans la moelle osseuse, soit ils modifient la spécificité de leur récepteur (receptor editing ou révision des récepteurs), soit ils sont tués (sélection négative). Certains lymphocytes B immatures qui reconnaissent des antigènes du soi dans la moelle osseuse peuvent réactiver leur machinerie de recombinaison des gènes des immunoglobulines (Ig) et commencer à exprimer une nouvelle chaîne légère d'Ig. Cette nouvelle chaîne légère s'associe à la chaîne lourde précédemment exprimée afin de produire un nouveau récepteur d'antigène, qui n'est plus spécifique de l'antigène du soi. Ce changement de spécificité du récepteur, appelé *receptorediting* ou révision du récepteur, réduit la probabilité que des cellules B autoréactives potentiellement nocives s'échappent de la moelle osseuse. Si la révision des récepteurs échoue, les cellules B immatures qui reconnaissent des autoantigènes avec grande affinité reçoivent des signaux de mort et meurent d'apoptose. Ce processus de délétion ressemble à la sélection négative subie par les lymphocytes T immatures. Comme dans le compartiment des lymphocytes T, la sélection négative subie par les lymphocytes B élimine les lymphocytes présentant des récepteurs de haute affinité pour des autoantigènes abondants, habituellement exprimés dans une grande partie de l'organisme sous forme soit membranaire soit soluble.

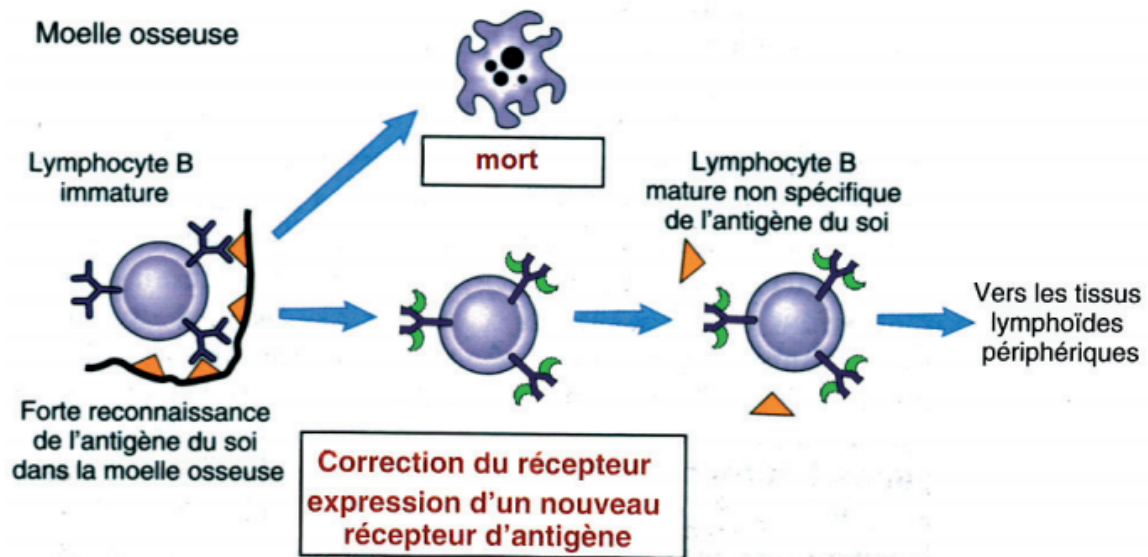


Figure 3 : Sélection négative des lymphocytes B dans la moelle osseuse [18].

1.2.2. Tolérance périphérique des lymphocytes B.

Les lymphocytes B matures qui rencontrent des autoantigènes présents à fortes concentrations dans les tissus lymphoïdes périphériques deviennent anergiques et ne sont plus en mesure de répondre à nouveau à ces autoantigènes. Une hypothèse postule que les lymphocytes B pourraient devenir anergiques s'ils reconnaissent un antigène sans l'aide des lymphocytes T (car les lymphocytes auxiliaires sont absents ou tolérants). Les antigènes T-indépendants pourraient activer les lymphocytes B sans la collaboration des lymphocytes T uniquement lorsque ce type d'antigènes déclenche des signaux puissants dans les lymphocytes B.

Les lymphocytes B anergiques peuvent quitter les follicules lymphoïdes et en sont ensuite exclus. Ces lymphocytes B exclus peuvent mourir, car ils ne reçoivent pas les stimulus de survie nécessaires[18].

2. Mécanisme de l'auto-immunisation

2.1. Rupture de tolérance LB.

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

❖ Déficit du contrôle humoral de l'auto-réactivité

Chez l'individu sain, des Ac anti-idiotypiques neutralisent les auto-Ac naturels présents dans le sérum. Un défaut de contrôle des auto-Ac, en particulier un défaut de contrôle des igG par les igm autologues anti-idiotypiques peut être observé au cours du LES ou de l'anémie hémolytique auto-immune.

❖ Mimétisme moléculaire

Il existe un certain nombre de situations au cours desquelles un mimétisme moléculaire peut être à l'origine de manifestations auto-immunes. L'exemple historique du rhumatisme articulaire aigu illustre cette notion. En 1960, Kaplan et al. ont montré que des Ac dirigés contre des antigènes de streptocoques du groupe A se fixaient à des extraits cardiaques. Par la suite, des réactivités croisées ont été mises en évidence entre la myosine cardiaque et la protéine M du streptocoque du fait d'une séquence peptidique identique. Le rôle pathogène de ces Ac a été montré plus récemment par la même équipe. Des réactivités croisées ont également été mises en évidence vis-à-vis d'antigènes synoviaux.

Un phénomène de mimétisme moléculaire entre des antigènes tumoraux et certaines structures nobles du système nerveux central est également à l'origine de la survenue de certains syndromes paranéoplasiques neurologiques associés en particulier au cancer bronchique à petites cellules.

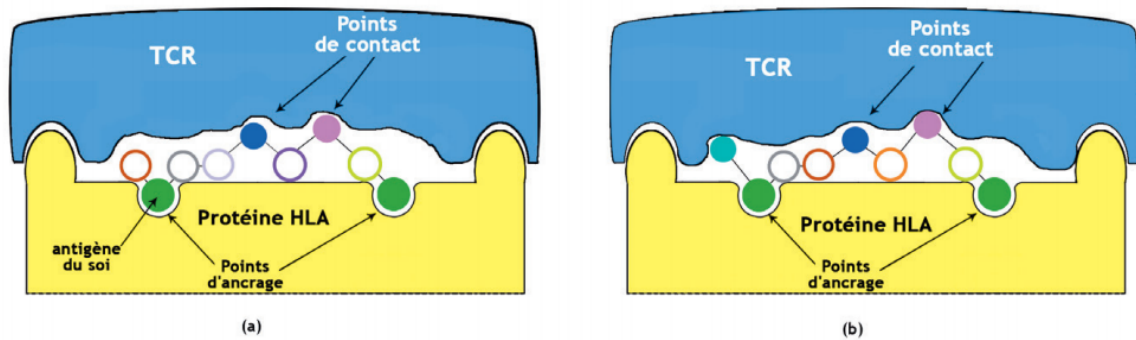


Figure 4 : Auto-immunité par un antigène microbien : notion de «mimétisme moléculaire».

Le TCR reconnaît ponctuellement le complexe « HLA-peptide (microbien)» et peut « se tromper» en reconnaissant un peptide du soi (figure a) qui a des résidus communs avec le peptide microbien du non soi (figure b). Par suite, les antigène microbiens pourront activer les lymphocytes T auto-réactifs.

❖ Activation polyclonale des lymphocytes B

Une autre situation est la stimulation oligoclonale ou polyclonale des LB induite par un agent infectieux. Comme la survenue, au cours de l'infection par le virus epstein-Barr, dans un contexte d'hypergammaglobulinémie polyclonale, d'une anémie hémolytique auto-immune ou d'une thrombopénie auto-immune. On peut également observer de manière fréquente une thrombopénie auto-immune au cours de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH). Le mécanisme peut également avoir pour origine un mimétisme moléculaire puisque certains Ac dirigés contre des protéines de surface du virus (GP120, GP41), peuvent également reconnaître des protéines de surface des plaquettes comme GPIIb/IIIa entraînant une thrombopénie périphérique.

❖ Défaut d'apoptose

Au cours des syndromes lymphoprolifératifs auto-immuns, on observe chez de jeunes enfants une organomégalie, une hyperlymphocytose périphérique et tissulaire avec une dominante de LT CD4/CD8 et de LB mais également des LT double négatif (CD4-/CD8-). Il existe alors une lymphoprolifération, une hypergammaglobulinémie polyclonale et des cytopénies auto-immunes sont mises en évidence, éventuellement associées à des Ac anti-nucléaires, anti-ADN natif double brin sans qu'il existe en règle de manifestations cliniques de type LES.

2.2. Auto-immunisation cellulaire

2.2.1. LE DEVELOPPEMENT DES LT

La sélection négative permet l'élimination des formes reconnaissant trop fortement le CmH du soi ou le CmH couplé à des antigènes du soi. La sélection négative nécessite la présentation d'antigènes tissus spécifiques que le LT pourra rencontrer en périphérie. Cette expression par les cellules épithéliales thymiques médullaire est sous la dépendance du facteur de transcription AutoImmune Regulatory Element ou élément régulateur autoimmun (aire). Récemment, un déficit en aire a été mis en évidence chez les patients présentant un syndrome aPeCeD (Autoimmune Polyendocrinopathy Candidiasis Ectodermal Dystrophy ou polyendocrinopathie auto-immune, candidose, dystrophie ectodermique). Les patients présentent des manifestations auto-immunes spécifiques d'organes survenant dès l'enfance (hypoparathyroïdie, insuffisance surrénalienne, diabète de type 1, hypothyroïdie...), des troubles des phanères (alopécie, vitiligo, dystrophie unguéale...) ainsi qu'une susceptibilité accrue aux candidoses. À noter que le spectre des manifestations auto-immunes varie d'un patient à l'autre.[19]

2.2.2. Modification de la balance cytokinique.

Le rôle des cytokines dans le maintien de cette auto-immunité n'est pas négligeable. L'harmonie entre Th-1 et Th-2 est assurée par rIL-10 dans un sens et par l'IFN- γ dans l'autre. On devine qu'il faut que cet équilibre soit rompu pour qu'une MAI se développe. On parle même de «maladie Th-1», dans le cas de la PR où les macrophages produisent de grandes quantités d'IL-1, d'IL-6 et de

TNF- α . C'est pourquoi les anticorps monoclonaux anti-TNF- α sont tellement actifs dans cette affection, mais pas dans les autres ! De plus, ces cytokines activent de façon intempestive les cellules dendritiques qui sont les CPA les plus efficaces de l'organisme. Ce qui stimule les lymphocytes T auxiliaires de la synoviale rhumatoïde, même s'il n'y a pas d'antigène en cet endroit pour le faire. La situation est inversée dans le LED [20].

2.2.3. Lymphocytes T régulateurs.

Un déficit quantitatif ou qualitatif en T régulateurs a été mis en évidence dans de nombreuses pathologies auto-immunes dont la PR, la SEP, le LES ou le diabète de type 1. Le rôle de ces LT est également mis en évidence dans le syndrome *immunodysregulation, polyendocrinopathy and enteropathy, X-linked syndrome* (iPeX, ou syndrome lié à l'X associant dysrégulation immunitaire, polyendocrinopathie et entéropathie), lié à une mutation du facteur foxp3. Ces patients présentent de nombreuses manifestations dysimmunitaires (diabète de type 1, malabsorption digestive, eczéma...) [19].

3. Mécanismes effecteurs :

Dans de nombreuses maladies chroniques, le système immunitaire déclenche des réactions inflammatoires dans certains tissus cibles, qui sont progressivement infiltrés par des lymphocytes et des leucocytes alors qu'il n'y a aucun signe apparent d'infection active. Ces maladies sont causées par le système immunitaire lui-même, qui s'attaque aux cellules et aux tissus de son propre organisme comme s'ils étaient infectés. Il s'ensuit un dysfonctionnement chronique des tissus et organes touchés par ces réactions immunitaires contre des composants autologues (du soi) une réponse immunitaire à la base d'une maladie auto-immune est appelée réponse auto-immune et aboutit à un état d'auto-immunité.

Au cours des maladies auto-immunes, les tissus qui sont attaqués et les symptômes qui se manifestent sont très variés. Un caractère typique de ces maladies est la présence d'anticorps et des cellules T spécifiques des antigènes exprimés par les tissus cibles. Ces antigènes sont appelés auto antigènes et les effecteurs de l'immunité adaptative qui les reconnaissent sont appelés auto anticorps et cellules T auto-immunes.

Les mécanismes de la reconnaissance antigénique sont les mêmes que ceux qui sont utilisés dans les réponses aux pathogènes et aux antigènes de l'environnement. Une maladie auto-immune peut être causée par divers mécanismes effecteurs.

Les maladies auto-immunes peuvent être classées selon le type du mécanisme immunologique effecteur en cause (tableau n°3). On distingue trois types de maladies auto-immunes et leurs mécanismes effecteurs correspondent à trois types de réactions d'hypersensibilité.

Le premier type de maladies auto-immunes correspondant à l'hypersensibilité de types II est causé par des anticorps dirigés contre les composants de la surface cellulaires et de la matrice extracellulaire. Le deuxième types, qui correspond à l'hypersensibilité de type III, se développe à la suite des dépôts de complexes immuns dans les tissus. Le troisième type, qui correspond à l'hypersensibilité types IV, nécessite la participation de cellules T effectrices. Les maladies auto-immunes de ces trois types sont décrites dans le tableau suivant[21].

Maladie auto-immune	Autoantigène	Conséquence
Anticorps dirigés contre des antigènes de surface cellulaire ou de la matrice extracellulaire (type II)		
Anémie hémolytique par auto-immunisation	Antigènes du groupe sanguin Rh, antigène I	Destruction des globules rouges par le complément et les phagocytes, anémie
Purpura thrombopénique auto-immun	Intégrine des plaquettes gpllb:IIla	Saignement anormal
syndrome de Goodpasture	Domaine non Collagène du collagène de type IV	Glomérulonéphrite, hémorragie pulmonaire
Pemphigus vulgaire	Cadhérine de l'épiderme	Lésions bulleuses de la peau
Rhumatisme articulaire aigu	Antigènes de la paroi des streptocoques. Les anticorps réagissent de manière croisée avec le muscle cardiaque	Arthrite, myocardite, cicatrices persistantes des valvules cardiaques
Maladies de Basedow	Récepteur de la thyroïdostimuline	Hyperthyroïdie
Myasthénie	Récepteur de l'acétylcholine	Faiblesse progressive
Diabète insulino-dépendant	Récepteur de l'insuline (antagoniste)	hyperglycémie, acidocétose
Hypoglycémie	Récepteur de l'insuline (agoniste)	Hypoglycémie
Maladie à complexes immuns (Types III)		
Endocardite bactérienne subaiguë	Antigène bactérien	Glomérulonéphrite
Cryoglobulinémie essentielle mixte	Complexes de facteur rhumatoïde IgG (avec ou sans antigène de l'hépatite C)	Vasculite systémique
Lupus érythémateux disséminé	ADN, histones, ribosomes, snRNP, scRNP	Glomérulonéphrite, vasculite, arthrite
Maladies dépendantes des cellules T (Type IV)		
Diabète insulino-dépendant	Antigène des cellules B du pancréas	Destruction des cellules
Polyarthrite rhumatoïde	Antigène non identifié de la synovie	Inflammation et destruction des articulations
Sclérose en plaques	Protéine basique de la myéline, protéolipide	Dégénérescence cérébrale. Paralysie

Tableau 3 : mécanismes effecteurs de l'auto-immunité[21].

*IV. Classification
des maladies
auto-immunes*

D'après les données de la littérature, il existe plusieurs modalités de classifications, La classification la plus reconnue et la plus employée, reste celle opposant les MAI en deux grands groupes:

- les spécifiques d'organes.
- les systémiques : connectivites et vascularites.

1. Maladie auto-immunes spécifiques d'organes

La plupart des organes peuvent être touchés par un mécanisme d'auto-immunité mis en évidence par la présence d'auto-anticorps.

Le tableau suivant résume les principales maladies auto-immunes spécifiques d'organe observées chez l'homme.

Ce tableau n'est pas exhaustif, il existe d'autres maladies auto-immunes spécifiques d'organes comme le vitiligo, certaines uvéites auto-immunes, certaines rétinites auto-immunes, l'œdème angioneurotiques acquis, etc.

Maladie	Expression clinico-biologique	anticorps (fréquence)
Tyroïde :		
Thyroïdite de Hashimoto	Après une phase d'hyperthyroïdie inconstante, évolution vers l'hypothyroïdie	Ac anti-récepteur de la TSH Ac anti-thyroglobuline (TG) et anti-thyroperoxydase (TPO)
Myxœdème primaire	Hypothyroïdie	Ac anti-TPO
Thyrotoxicose de Basedow	Hypothyroïdie	Ac anti-récepteur de la TSH
Surrénale :		
Maladie d'Addison	Insuffisance surrénale	Ac anti-21 hydroxylase
Pancréas :		
Diabète insulino-dépendant	Hyperglycémie	Ac anti-glutamate décarboxylase (GAD), anti-insuline... Ac anti-ilots de Langerhans
Ovaire :		
Ménopause précoce	Aménorrhée	Ac anti-tissu ovarien
Peau :		
Pemphigus	Maladie bulleuse des muqueuses buccales, puis bulle cutanée	Ac anti-substance intercellulaire (Ac anti-desmoglérine 3)
Pemphigoïde	Bulle cutanée bilatérale et symétrique, prédominant sur les faces de flexion des membres et sur la partie basse de l'abdomen	Ac anti-membrane basale cutanée (Ac anti-BP 180)
Organes hématopoïétiques :		
anémie hémolytique	Anémie à tendance macrocytaire, régénérative	Test de coombs
Leucopénie	Diminution des polynucléaires neutrophiles < 1500/mm ³	Ac anti-leucocytes
Thrombopénie	Plaquette < 150 000/mm ³	Ac anti-plaquettes
Rein :		
Syndrome de Goodpasture	Syndrome pneumo-rénal avec hémoptysie et insuffisance rénale aiguë	Ac anti-membrane basale glomérulaire
Tubulonéphrite interstitielle	Insuffisance rénale aiguë	Ac anti-membrane basale tubulaire

Maladie	Expression clinico-biologique	anticorps (fréquence)
Système nerveux et plaque motrice		
Syndrome de Guillain Barré	Déficit moteur des 4 membres d'installation rapide, atteinte possible des nerfs crâniens	Ac anti-gangliosides M1 (GM1) et GD1b
Neuropathies multifocales	Neuropathie sensitivomotrice progressive des 4 membres	Ac anti-<< Myelin Associated Glycoprotein >> (MAG)
Myasthénie	Ptosis uni- ou bilatéral, variable d'un membre à l'autre, fatigabilité musculaire progressive lors d'un effort soutenu, troubles progressifs de la phonation au cours de la conversation, etc.	Ac anti-récepteur de l'acétylcholine (ARAC)
Tube digestif et foie		
Anémie de Biermer	Anémie macrocytaire non régénérative	Ac cellules pariétales gastriques Ac anti-facteur intrinsèque
Hépatite auto-immune chronique : - de type I - de type II	Cytolyse, +/- cholestase, risque d'évolution cirrhogène	Ac anti-actine, Ac anti-SLA Ac anti-Liver-Kidney-Microsome 1 (LKM1) Ac anti-Liver-Cytosol 1 (LC1)
Cirrhose biliaire primitive	Syndrome de cholestase, risque d'évolution cirrhogène	Ac anti-mitochondries de type M2
Maladies coeliaque	Diarrhée, syndrome de malabsorption, ostéomalacie	Ac antigliadine** Ac anti-endomysium (Ac antitransglutaminase)
Maladie de Crohn	Diarrhée	Ac anti-Saccharomyces cerevisiae** (ASCA)
Rectocolite hémorragique (RCH)	Diarrhée	Ac anticytoplasme des polynucléaires neutrophiles atypiques (xANCA)

Tableau 4 : principales maladies auto-immunes spécifiques d'organes, et auto-anticorps associés[1].

** Anticorps dirigés contre des antigènes de l'environnement

2. Maladie auto-immunes non spécifiques d'organes

Les principaux représentants des MAI systémiques sont les connectivites et les vascularites, Le terme connectivite ou collagénose désignait initialement un ensemble d'affections ayant comme dénominateur commun des modifications anatomopathologiques du tissu conjonctif. Si les conceptions physiopathologiques ont considérablement évolué et ne mettent plus au premier plan les anomalies du tissu collagène, le terme de connectivite est toujours en vigueur et désigne habituellement le lupus érythémateux systémique (LES), les myopathies inflammatoires, la sclérodermie systémique, le syndrome de Gougerot-Sjögren primitif et les connectivites mixtes. Les connectivites sont des maladies auto-immunes non spécifiques d'organes. Cette appellation regroupe des affections responsables d'atteintes multiviscérales de présentations diverses ce qui rend leur diagnostic parfois difficile[22].certaines vascularites ont une très faible prévalence et répondent à la définition des maladies rares comme les myopathies (polymyosite et dermatomyosite), la sclérodermie systémique ou le lupus systémique. D'autres sont plus fréquentes comme le syndrome de Gourgerot-sjogren et la maladie de Horton[1].

Type	Prévalence	Pic d'âge au diagnostic	Principaux organes cibles	Auto-anticorps et/ou antigène cible
Lupus systémique	1.5 à 5/10000	20-30 ans	Peau, articulations, reins, lignées érythropoïétiques, SNC	Ac antinucléaires Ac anti-DNA natif Ac anti-Sm Ac anti-nucleosome, anti-histone
Syndrome de Gougerot-Sjogren	10 à 20/10000	40-60 ans	Glandes salivaires et lacrymales, articulations, SNP, SNC, reins, poumons	Ac antinucléaires Ac anti-SSa/SSb FR
Sclérodermie systémique	1 à 2/10000	40-50 ans	Peau, microcirculation, poumons, reins, cœur	Ac antinucléaires Ac anti-Scl 70 Ac anti-centromères
Dermatomyosite/ polymyosite	0.5 à 1/10000	10-15 ans 40-60 ans	Muscle, poumons, Peau (dermatomyosite)	Ac antinucléaires Ac anti-J01 et autres anti-synthétases
Syndrome primaire des anti-phospholipides		< 45 ans	Thromboses veineuses (tout territoire). Thromboses artérielles (SNC, cœur, peau)	Ac anti-cadioline Ac anti-prothrombinase Ac anti-B2-GP1
Syndrome de Sharo (ou connectivité mixte)	0.3/10000	20-50 ans	Articulations, microcirculation, poumon	Ac antinucléaires Ac anti-RNP
Maladie de Horton	20 à 25/10000 après 50ans	> 50 ans	Aorte et branches principales	Elastine ?

Tableau 5 : maladies auto-immunes systémique et leur principales caractéristiques[1].

Les vascularites systémiques constituent un groupe hétérogène de maladies caractérisées par une atteinte inflammatoire des vaisseaux sanguins artériels, capillaires et veineux conduisant à une altération de la paroi vasculaire, qui intéresse aussi bien l'endothélium que la média ou l'adventice. Les sténoses ou l'occlusion des lumières vasculaires par une thrombose ou une prolifération intimale sont la conséquence de l'atteinte de l'endothélium vasculaire.

La plupart des classifications prennent en compte des critères cliniques et histologiques.

En 1994, la Nomenclature de Chapel Hill (tableau 6) a permis de mieux classer la plupart des vascularites et de mettre en perspective les critères histologiques et les mécanismes pathogéniques[23].

Vascularites des vaisseaux de gros calibre	
• Artérite à cellules géantes (artérite temporale)	Artérite granulomateuse de l'aorte et de ses principales branches de division atteignant avec prédilection les branches de la carotide externe. <i>Atteinte fréquente de l'artère temporale. Survient habituellement chez des patients âgés de plus de 50 ans et est souvent associée à une pseudo-polyarthrite rhizomélique.</i>
• Artérite de Takayasu	Artérite granulomateuse de l'aorte et de ses principales branches de division. <i>Survient habituellement chez des patients âgés de moins de 50 ans.</i>
Vascularites des vaisseaux de moyen calibre	
• Périartérite noueuse	Vascularite nécrosante des artères de moyen et petit calibres sans glomérulonéphrite, ni vascularite des artérioles, capillaires et veinules. Vascularite intéressant les vaisseaux de gros, moyen et petit calibres associée à un syndrome lympo-cutanéomuqueux. <i>Atteinte fréquente des artères coronaires. Aorte et veines peuvent être atteintes. Survient habituellement chez l'enfant.</i>
• Maladie de Kawasaki	
Vascularites des vaisseaux de petit calibre	
• Granulomatose de Wegener	Granulomatose de l'appareil respiratoire associée à une vascularite nécrosante des vaisseaux de petit et moyen calibres (capillaires, veinules artérioles, artères) <i>Glomérulonéphrite nécrosante fréquente</i>
• Syndrome de Churg et Strauss	Granulomatose et infiltration éosinophilique de l'appareil respiratoire associée à une vascularite des vaisseaux de petit et moyen calibres. Asthme et hyperéosinophilie
• Polyangéite microscopique	Vascularite nécrosante avec peu ou sans dépôts immuns affectant les petits vaisseaux (capillaires, veinules, artérioles). <i>Peut atteindre les artères de petit et moyen calibres. Glomérulonéphrite nécrosante très fréquente. Capillarite pulmonaire fréquemment observée.</i>
• Purpura rhumatoïde de Henoch-Schönlein	Vascularite avec dépôts d'IgA affectant les petits vaisseaux (capillaires, veinules, artérioles). <i>Atteint typiquement la peau, le tube digestif et le rein (glomérules). Arthralgies et arthrites fréquentes.</i>
• Cryoglobulinémie mixte essentielle	Vascularite avec dépôts d'immunoglobulines affectant les petits vaisseaux (capillaires, veinules, artérioles). Présence d'une cryoglobulinémie. <i>La peau et le rein (glomérules) sont souvent atteints.</i>
• Vascularites cutanées leucocytoclasiques	Vascularites cutanées leucocytoclasiques isolées sans vascularite systémique ni glomérulonéphrite.

Tableau 6 : Noms et définitions des vascularites adoptés par la conférence de consensus pour la nomenclature des vascularites systémiques à Chapel Hill, Caroline du Nord, États-Unis, 1993[23].

*V. Diagnostique
biologique des MAIS*

Les MAI systémiques peuvent se manifester par une symptomatologie très pauvre au début, ne touchant parfois qu'un organe, ou très polymorphe ne permettant pas toujours d'orienter d'emblée le clinicien[24]. Les auto-anticorps sont de véritables marqueurs biologiques des maladies auto-immunes et leur détection a progressivement fait partie des outils de diagnostic en pratique courante. Certains sont caractéristiques d'une pathologie et leur présence fait partie des critères de diagnostic. D'autres peuvent donner une orientation diagnostique ou être utiles dans le diagnostic différentiel. La classification de certaines pathologies auto-immunes est basée sur la présence ou l'absence des auto-anticorps correspondants. Ils peuvent être également prédictifs de facteurs de risque ou être un critère de suivi thérapeutique[25].

Anticorps	Critères de		Prévalence
Anti-Ro/SS-A Anti-La/SS-B	SGS	AECG 2002, ACR 2012	30-70% 30-40%
Anti-ADN db	LES	ACR 1982 révisés 1997 SLICC 2012	75-85% (ELISA)
Anti-Sm			< 5 %
APL			8-23 %
ANA à titres élevés			> 95 %
Anti-centromères	Sclérodermie systémique (SS)	ACR/EULAR 2013	8% (SS diffuse), 57- 82 % (SS limitée)
Anti-Scl-70			20-75 %
Anti-ARN polymérase III			5-19 %
Anti-phospholipides	SAPL	Sydney 2006	Fonction de la clinique
ANCA	Vascularites associées aux ANCA	CHCC 2012	Anti-MPO : 60 % MPA/GEPA, 25% GPA Anti-PR3 : 65% GPA, 26/10 % MPA/GEPA
Facteurs rhumatoïdes	PR	ACR/EULAR 2010	50-60%
CCP/ACPA			50-60%
Anti-mitochondries	Cirrhose biliaire primitive	AASLD 2009, EASL 2009	90-99%

Tableau 7 : anticorps marqueurs de MAI reconnus comme critères de classification/diagnostiques internationaux[24].

Différentes techniques sont utilisées pour la recherche des auto-anticorps. Elles consistent à visualiser l'interaction de l'auto-anticorps à rechercher avec son antigène cible à l'aide d'un anticorps anti-immunoglobulines humaines (conjugué) marqué par un fluorochrome, une enzyme, un isotope radioactif ou un luminogène. L'immunofluorescence indirecte (IFI) sur des préparations cellulaires ou coupes de tissus est le plus souvent une technique de dépistage, les techniques immunoenzymatiques, radio-immunologiques, fluorimétriques ou la chimiluminescence permettent d'identifier la cible des auto-anticorps dépistés mais aussi de rechercher des auto-anticorps de façon directe et spécifique[26].

1. Stratégies de diagnostic

Elle se fait soit en une étape, consistant en la recherche et l'identification directe de la spécificité anticorps, soit en deux étapes, avec un test de dépistage par immunofluorescence indirecte (IFI), puis une technique d'identification des cibles antigéniques. L'interprétation du bilan auto-immun prend en compte la cohérence entre les résultats et le contexte clinique[2].

1.1. Technique de dépistage : L'immunofluorescence indirecte

➤ Principe :

En 1944, Albert coons a montré que les anticorps pouvaient être fluorescentes. Les molécules fluorescentes absorbent la lumière d'une certaine longueur d'onde (excitation) et émettent de la lumière d'une autre longueur d'onde (émission). lorsque des molécules d'anticorps sont marquées par un colorant fluorescent, ou fluorochrome, les complexes immuns contenant ces anticorps marquées par fluorescence peuvent être détectés par l'émission de lumière colorée lorsqu'ils sont excités par une lumière de longueur d'onde appropriée. Les molécules d'anticorps liées aux antigènes dans les cellules ou les coupes de tissu peuvent être visualisées de la même façon[27].

L'IFI utilise les propriétés de la réaction antigène/anticorps. Un anticorps possède la propriété unique, par son paratope ou site anticorps, de se combiner spécifiquement à l'épitope ou déterminant antigénique d'un antigène, que celui-ci soit exogène ou endogène (autoantigène en ce cas).

L'IFI 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 des 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 un fluorochrome.

Les fluorochromes sont des substances qui ont pour propriétés d'émettre une fluorescence dans le visible lorsqu'ils sont excités par une lumière dans les longueurs d'onde de l'ultraviolet. Trois sont d'utilisation courante : l'isothiocyanate de fluorescéine (FITC), la phycoérythrine (PE) et la rhodamine. La lecture se fait à l'aide d'un microscope à fluorescence équipé en épiillumination[28].

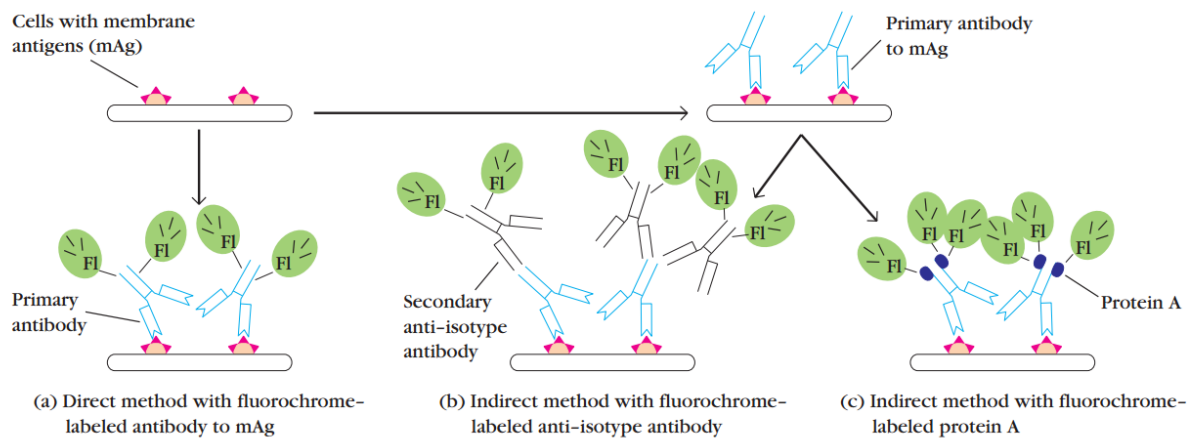


Figure 5 : marquage par immunofluorescence directe ou indirecte d'un antigène de membrane.

Dans la méthode directe (a) les cellules sont colorées par un Ac anti-mAg marqué par un fluorochrome (FI). Dans les méthodes indirectes (b et c), les cellules sont tout d'abord incubées avec un Ac anti-mAg non marqué, puis elles sont colorées par un réactif secondaire marqué par un fluorochrome qui se lie à l'anticorps primaire.

➤ Utilisation

L'IFI est la technique la plus utilisée en routine. Elle permet de mettre aisément en évidence un grand nombre d'anticorps. Les anticorps antinucléaires (AAN) sont recherchés en bloc sur des cultures de cellules HEp-2, alors que pour les anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires (ANCA) le substrat est un étalement de granulocytes humains.

L'aspect de la fluorescence au niveau de la cellule ou du tissu est en général fortement évocateur de la nature de l'antigène cible reconnu par les anticorps. Dans certains cas il est suffisamment caractéristique pour être attribué sans ambiguïté à une spécificité particulière, c'est le cas, par exemple, des anticorps anti-centromères. Mais dans la plupart des cas l'IFI ne permet pas à elle seule de déterminer la cible des anticorps qui doit être identifiée grâce à des méthodes spécifiques.

Il existe aussi de nombreux AAN ou anticorps anticytoplasmiques, décelés par immunofluorescence sur les cellules HEp-2, pour lesquels il n'existe pas de méthodes d'identification.

Depuis peu, un certain nombre d'auto-anticorps peuvent être recherchés et identifiés par IFI sur des cellules transfectées. L'expression, *in vitro*, d'auto-antigènes a trouvé un domaine important dans la recherche des auto-anticorps dirigés contre des protéines membranaires difficiles voire impossibles à purifier. Ces cellules se sont en particulier révélées utiles pour la mise en évidence des anticorps anti-membrane neuronale et synaptique (récepteurs et canaux ioniques).

1.2. Techniques d'identification:

À l'heure actuelle, la recherche et l'identification des autoanticorps sont réalisées le plus souvent par des méthodes immunoenzymatiques (ELISA et/ou immunodots) de plus en plus automatisées. Leurs performances analytiques sont variables, dépendant de la nature des nombreux réactifs commerciaux utilisés et de l'environnement technique propre à chacune d'elles[26].

1.2.1. ELISA

➤ Principe :

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

➤ Type :

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

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

-ELISA compétitif : l'anticorps est tout d'abord incubé en solution avec un échantillon contenant l'antigène. Le mélange antigène-anticorps est ensuite

déposé dans un puits de microtitration où est absorbé l'antigène. Plus il y a d'antigène présent dans l'échantillon, moins d'anticorps libre sera disponible pour se lier au puits où est absorbé l'antigène. L'addition d'un anticorps secondaire conjugué à un enzyme, spécifique de l'isotope de l'anticorps primaire, peut être utilisée pour déterminer la quantité d'anticorps primaire liée au puits. Cependant, dans le dosage compétitif, plus la concentration de l'antigène est élevée dans l'échantillon original, plus l'absorbance est faible[27].

1.2.2. Immunodot

La technique de l'immunodot pour la recherche des anticorps a été introduite en 1982 par Paul Herbrinck et col. Sous l'appellation de « Antigen Spot Test » ou AST.

Les protéines sont directement appliquées sur des bandelettes sous forme de spots pour former des « dots ». Le dépôt des antigènes peut se faire sous forme d'une petite tache ronde (dot-spot) ou en ligne fine (dot-line). La matrice doit avoir une bonne affinité pour les antigènes et une bonne capacité d'adsorption. La fixation est rapide, voire instantanée, ce qui réduit le risque de dénaturation des antigènes. Une des préoccupations essentielles est d'adsorber l'antigène en le concentrant au centre du dépôt sans diffusion latérale. Ceci peut être obtenu en utilisant des tampons de forces ioniques adaptées. Plusieurs antigènes différents peuvent être déposés sur la même membrane permettant la détection simultanée de nombreux anticorps différents. Une fois séchée, la membrane est saturée par des agents bloquants et stabilisants puis conservée à l'abri de l'humidité. Ces antigènes alors situés à la surface de la membrane peuvent se complexer avec leurs anticorps spécifiques par incubation avec le sérum. Les anticorps capturés sont localisés par immunodétection, à l'aide d'un

antisérum marqué par une enzyme, et révélés par le substrat correspondant. La lecture des résultats par simple appréciation visuelle de la coloration fournit des résultats qualitatifs, à la limite semi-quantitatifs si l'on tient compte de l'intensité de la coloration. Il existe également la possibilité d'analyser les bandelettes à l'aide d'un scanner qui mesure l'intensité de coloration des spots ou des bandes, permettant une évaluation quantitative[29].

1.2.3. Les autres méthodes

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

- **La fluorimétrie en flux** (technologie Luminex®) :

Il s'agit d'un système analytique multiplex (technologie xMAP® : Multiple Analyte Profile). Il repose sur trois éléments principaux : un support solide constitué de microbilles, des marqueurs fluorescents, et un fluorimètre en flux. Le support analytique est représenté par des microbilles en polystyrène de 5,6 mm de diamètre. Les fonctions carboxyliques de ces billes permettent de fixer de façon covalente différents types de molécules porteuses de groupements aminés : antigènes, anticorps, acides nucléiques ou autres types de récepteurs ou de ligands[30].

- **La chimiluminescence** :

La mesure de la lumière produite par chimioluminescence lors de certaines réactions chimiques apporte une alternative commode et très sensible aux mesures par absorption dans les dosages par ELISA. Dans les versions d'ELISA utilisant la chimioluminescence, un substrat luxogène (générateur de lumière)

remplace le substrat chromogène des réactions conventionnelles d'ELISA. La lumière produite pendant la réaction luxogène peut être détectée par exposition d'un film photographique. Une quantification de la lumière émise peut être réalisée avec un luxomètre[27].

- **Les méthodes radioimmunologiques :**

La technique a été développée pour la première fois par deux endocrinologues, S.A. Berson et Rosalyn Yalow, en 1960, pour déterminer le taux des complexes insuline-anti-insuline chez les diabétiques.

Le principe du RIA implique la liaison compétitive d'un antigène radiomarké et d'un antigène non marqué à un anticorps de haute affinité. L'antigène marqué est mélangé à l'anticorps à une concentration qui sature les sites de liaison à l'antigène de la molécule d'anticorps, puis des quantités croissantes de l'échantillon à tester contenant l'antigène non marqué de concentration inconnue sont ajoutées. L'anticorps ne fait pas de distinction entre l'antigène marqué et l'antigène non marqué et ainsi les deux types d'antigène entrent en compétition au niveau des sites de liaison disponibles d'anticorps, avec concentration croissantes d'antigène non marqué, davantage d'antigène marqué est déplacé des sites de liaison. La diminution de la quantité d'antigène radiomarké fixé à l'anticorps spécifique en présence de l'échantillon à tester est mesurée pour déterminer la quantité d'antigène présent dans l'échantillon[26].

1.3. L'importance de l'antigène utilisé

La nature de l'antigène utilisé est très importante, trois types sont généralement employés.

- ***Les antigènes naturels***

Les antigènes naturels sont obtenus par extraction de tissus humains ou animaux. Les antigènes d'origine animale présentent généralement une homologie avec les antigènes humains et peuvent être utilisés. C'est le cas pour les préparations de nucléosomes, d'ADN, d'histones, RNP (ribonucléoprotéines).

De nombreux auto-antigènes sont constitués de complexes multimoléculaires au sein desquels se trouvent les composants antigéniques. Ces constituants sont sélectionnés pour la réalisation des tests. Les résultats du test dépendent du choix de ce composant. La molécule native du complexe peut présenter des épitopes spécifiques liés à l'association avec certains constituants. Le nucléosome présente un néo-épitope formé par l'association de l'ADN et des histones du core. La nature et la configuration moléculaire de l'antigène sont des éléments majeurs pour la réaction avec l'autoanticorps. Certains auto-anticorps ne reconnaissent que des déterminants antigéniques conformationnels, c'est-à-dire liés à la structure quaternaire de l'antigène. La dénaturation ou la déformation de la molécule conduisent à la perte de reconnaissance de l'antigène par les anticorps. Mais c'est surtout le procédé d'immobilisation de l'antigène sur les surfaces solides qui peut entraîner des modifications structurelles.

- ***Les antigènes recombinants***

Les antigènes recombinants sont de plus en plus utilisés pour la recherche des auto-anticorps. Les antigènes obtenus par génie génétique, malgré leur pureté, ne sont pas totalement identiques aux antigènes naturels. Les protéines exprimées par le système procaryote (*Escherichia coli*) ne subissent pas de

repliement moléculaire ni de modifications post traductionnelles. Le système d'expression sur cellules eucaryotes permet de produire des protéines structurellement de meilleure qualité. Ils ne peuvent cependant pas remplacer dans tous les cas les molécules natives. Les antigènes recombinants ne peuvent, par exemple, pas être utilisés pour la recherche des anticorps anti-PR3 et anti-MPO (myéloperoxydase).

- ***Les peptides/antigènes de synthèse***

Des antigènes de synthèse sont également utilisés dans certains tests. Il s'agit surtout de peptides synthétiques formés par de courtes séquences d'acides aminés correspondant à la région antigénique immunodominante :

- un peptide correspondant à la région amino-terminale de la titine (MET 30) est utilisé à la place de la protéine native dont l'énorme taille moléculaire empêche l'utilisation,

- un tri-peptide correspondant aux régions immunodominantes des trois cétoacides déshydrogénases est un substrat employé pour la recherche des anticorps anti-mitochondries,

- des peptides synthétiques modifiés par remplacement d'un résidu d'arginine par un résidu de catullien sont les antigènes largement utilisés pour la recherche des anticorps anti-protéines/peptides citrullinés (ACPA/CCP) pour le diagnostic de la polyarthrite rhumatoïde. La réactivité de ces peptides est variable, dépendant du nombre de résidus citrullinés, de leur position et du type des autres acides aminés qui les entourent[26].

2. Recherche des anticorps :

2.1. Anticorps antinucléaires

Ils forment un groupe hétérogène d'auto-anticorps non spécifiques d'organes. Ils sont principalement utilisés pour le diagnostic des connectivites et des hépatopathies autoimmunes. Leur recherche s'effectue en deux temps: dépistage des AAN totaux, puis caractérisation des spécificités, il y a une grande variété des cibles antigéniques :

- Ac spécifiques d'acides nucléiques et de nucléoprotéines : ADN, histones, nucléosomes ;
- Ac spécifiques d'antigènes nucléaires solubles (ENA) :Sm, RNP, SSA, SSB ;
- Ac dirigés contre les constituants du nucléole : Scl70, PMScI ;
- Ac dirigés contre les constituants du centromère.

La sensibilité des AAN est élevée, mais leur spécificité est faible. Ils sont détectés :

- au cours des maladies systémiques : LES (90-95 %), SGS (55 %), sclérodermies systémiques (50 %), dermatomyosites (25 %), connectivites mixtes (100 %), PR (45 %) ;
- au cours d'autres pathologies : hépatites auto-immunes (HAI) de type 1 (70 %), fibrose pulmonaire (50 %), myasthénie (50 %), leucémie lymphoïde chronique (13%) ;
- chez les sujets âgés (> 60 ans) : 20 % des cas ;
- chez les sujets sains : 5-10 % des cas ;
- au cours d'infections : 40 % des cas[2].

Comme leur nom l'indique clairement, les antigènes contre lesquels sont dirigés les ANA se trouvent dans les noyaux cellulaires et font partie des nucléoprotéines qui sont des protéines associées à de l'acide nucléique, ADN ou ARN.

Deux méthodes sont habituellement utilisées pour rechercher les ANA :

L'immunofluorescence indirecte (IFI), et *l'enzyme linked immunosorbent assay (ELISA)*. De manière générale, l'IFI est considérée comme une méthode très sensible, mais peu spécifique, alors que l'ELISA, qui permet de détecter les anticorps spécifiquement dirigés contre des nucléoprotéines bien caractérisées, est plus spécifique mais moins sensible[31].

EXAMENS SUSYTEMATIQUES

- I. Dépistage par immunofluorescence indirecte (IFI)
- II. Identification de l'anticorps
 1. Anticorps anti-antigènes nucléaires insolubles
 - a. ADN natif
 - Test de Farr
 - IFI sur *Crithidia luciliae*
 - ELISA
 - b. Histones
 2. Anticorps anti-antigènes nucléaires solubles
 - a. Sm
 - b. RNP
 - c. Ro(SS-A)
 - d. La(SS-B)

EXAMENS EN CAS D'ORIENTATION

- I. Anticorps anti-cardiolipines (ELISA)
- II. Anticorps anti-centromères (IFI)
- III. Certains anticorps anti-antigènes nucléaires solubles
 1. Jo-1
 2. Scl70

Figure 6 : conduit pratique à la recherche d'anticorps anti-nucléaires [32].

2.1.1. Dépistage des anticorps anti-nucléaires

La principale technique utilisée pour le dépistage des AAN est l'IFI (sur culture cellulaire ou coupe d'organe), alors que l'immunoenzymologie (ELISA) et l'immunoempreinte (immunodot) sont moins utilisées en dépistage.

i Immunofluorescence indirecte sur culture de cellules ou coupe d'organe

Les AAN, initialement recherches sur des coupes de tissus de rongeur, foie de rat principalement, sont aujourd'hui détectés, comme le préconise la nomenclature des actes de biologie médicale depuis 1996 sur une lignée de cellules humaines adhérentes, les cellules HEP-2 (*human epithelial cell line : type 2*). Ces cellules possèdent un noyau de grande taille à plusieurs nucléoles, ce qui améliore la définition des aspects de fluorescence. Leur culture sur lame permet d'obtenir des cellules à différents stades du cycle cellulaire favorisant ainsi la détection des AAN dirigés contre des cibles uniquement présentes à certaines phases du cycle, tel que le PCNA (*proliferating cell nuclear antigen*)[33, 34].

➤ Principe

Le sérum est mis en contact avec le substrat à température ambiante en chambre humide. Le temps de contact est en moyenne de 30 minutes. Si le sérum contient des AAN, ceux-ci se fixent spécifiquement au niveau de leurs cibles antigéniques. Leur présence est ensuite révélée, après une étape de lavage, par un anticorps anti-Ig humaines marqué à la fluorescéne.

➤ Résultats et interprétation

Trois notions sont importantes à envisager, l'**aspect de la fluorescence**, le **seuil de positivité** des résultats, et le **titre** en anticorps.

L'aspect de la fluorescence peut être **membranaire, homogène, moucheté, nucléolaire** et parfois **cytoplasmique**. Ces divers aspects de fluorescence sont mis en évidence selon la nature et la localisation des antigènes reconnus [34].

❖ Aspect centromère

L'aspect de fluorescence est caractéristique sur cellules HEp-2® (figure 10: Ac anti-centromères montrant une fluorescence de la plaque équatoriale en métaphase (ce qui requiert des cellules en division). Les Ac anti-protéines centromériques A, B, C sont retrouvés dans 60 à 80 % des sclérodermies à forme cutanée limitée (95 % des syndromes CREST) et dans 8 % des sclérodermies systémiques diffuses, ainsi qu'au cours des cirrhoses biliaires primitives (CBP) et du SGS secondaire.

❖ Aspect homogène

La fluorescence des cellules au repos est uniforme (figure 11 : fluorescence homogène); la chromatine des cellules en division est positive. Le plus souvent, il s'agit d'Ac anti-ADN natif, mais leur spécificité doit être confirmée.

- **Anticorps anti-ADN natif (dsDNA)** : Ils sont identifiés par plusieurs techniques:

- le test de Farr met en évidence des Ac de forte affinité (IgG), très spécifiques ;

- l'IF indirecte sur *Crithidia luciliae* permet également de détecter des Ac de forte affinité (IgG), mais est moins sensible ;
- l'ELISA retrouve des Ac de faible (IgM) et forte affinité (IgG) ; bien que moins spécifique, c'est la technique la plus utilisée aujourd'hui.

Les IgG anti-ADN natif sont très spécifiques du LES, retrouvés chez plus de 90 % des patients. L'augmentation de leur titre est corrélée avec l'évolutivité de la maladie.

- **Anticorps anti-histones** : Ils sont fréquemment retrouvés dans le LES, mais aussi dans d'autres MAI et au cours d'infections. Ils ont un intérêt pour le diagnostic de lupus induit par les médicaments.

- **Anticorps anti-nucléosomes** : Ils sont retrouvés chez 70 à 90 % des patients lupiques, le plus souvent associés aux Ac anti-ADN natif. Ils sont surtout utiles au diagnostic des LES sans anti-ADN natif. Par ailleurs, un titre élevé (par technique Elisa ou Dot) est évocateur d'une atteinte rénale.

❖ Aspect moucheté

La fluorescence des cellules au repos est mouchetée ; la chromatine des cellules en division est négative (figure : 12).

- **Anticorps anti-Sm** : Ils sont spécifiques du LES (10-20 %) et persistent pendant les rémissions.

- **Anticorps anti-RNP** : retrouvés dans le syndrome de SHARP (100 % des patients), le LES (30 %), la PR (15 %), les sclérodermies, ils sont de bon pronostic lorsqu'ils sont isolés (figure 3: Ac anti-RNP).

- **Anticorps anti-SSA/Ro (Ro60) :** Ils sont très fortement associés au SGS (70 %) et au LES (30 %). Parfois, les Ac antinucléaires sont négatifs ; de fait, les Ac anti-SSA/Ro doivent être recherchés devant un contexte clinique particulier (SGS, LES, grossesse). Enfin, ils sont de mauvais pronostic lorsqu'ils sont isolés.

- **Anticorps anti-SSB/La :** positifs dans 70 % des SGS et 10 % des LES, ils sont le plus souvent associés aux anti-SSA.

- **Anticorps anti-ARN polymérase III :** ils sont le plus souvent retrouvés au cours des sclérodermies systémiques (5 à 20 %) et associés à un risque de crise rénale.

- **Anticorps anti-Mi-2 :** dans les dermatomyosites (associés à un risque de cancer faible).

- **Anticorps anti-Ku :** dans les myosites de chevauchement (polymyosite-sclérodermie) ainsi que dans le LES et le SGS.

- **Anticorps anti-TIF1:** dans les dermatomyosites, associés à un risque de cancer élevé.

- **Anticorps anti-NXP2 et anti-SAE :** dans les dermatomyosites.

- **Anticorps anti-PCNA :** d'aspect caractéristique en IFI (moucheté, 1/3 des cellules positives), ils sont retrouvés dans le LES.

- **Anticorps anti-DFS70 (Dense Fine Speckled).** Leur aspect est caractéristique en IFI (moucheté avec plaques positives). Ils sont détectés au cours de contextes cliniques variés (uvéïte, dermatite atopique, asthme, maladies rhumatoïdes), mais aussi chez les sujets sains (10 %) ; leur intérêt clinique n'est pas établi.

❖ Aspect nucléolaire

La fluorescence des nucléoles apparaît granulaire, homogène ou mouchetée (figure : 11).

- **Anticorps anti-Scl70.** L'aspect de fluorescence est généralement mixte, homogène nucléolaire (figure :12) ; ils sont détectés le plus souvent au cours des sclérodermies systémiques diffuses (20-60 % des cas) et sont de mauvais pronostic, associés à des complications pulmonaires

- **Anticorps anti-PMscl (PM-1) :** dans le syndrome de chevauchement (sclérodermie-polymyosite) (figure 13).

- **Anticorps anti-fibrillarine :** dans les sclérodermies systémiques diffuses (5-20 %), ils sont de mauvais pronostic (associés à des complications pulmonaires) (figure 14).

- **Anticorps anti-NOR 90 et anti-Th/To :** ils sont recherchés en 3e intention, dans les sclérodermies systémiques diffuses.

❖ Aspects particuliers

- **Membrane nucléaire :** anti-gp210 dans la CBP, notamment séronégative pour les anti-M2 ; anti-lamines A, B, C (sans significativité clinique) (figure 15).

- **Dots nucléaires :**

- multiples (6-20) : anti-Sp100 et anti-PML dans la CBP ;
- quelques (1-6) : anti-coiline.

L'association d'anti-gp210 et d'anti-SP100 est de mauvais pronostic dans la CBP.

- **Appareil mitotique** : anticorps anti-NuMa, anti-fuseau, anticentrosomes, ne sont pas associés à des pathologies particulières.

- **Anticorps anti-appareil de golgi** : possibles dans les connectivites. Ces derniers, ainsi que les anti-rods ou anti-rings seront rendus ou pas, selon la clinique[2].

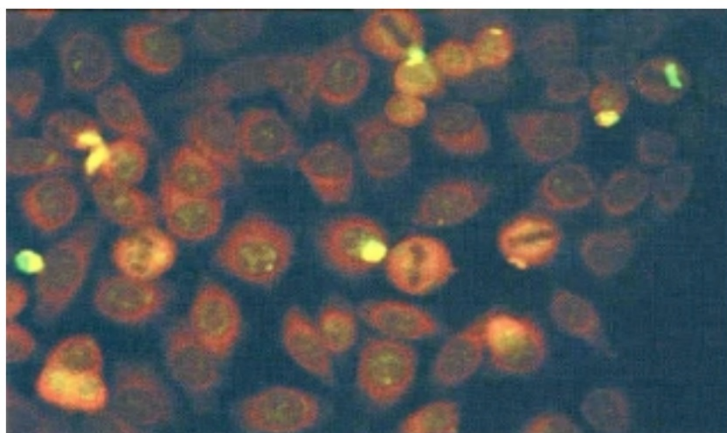


Figure 7 : aspect négatif

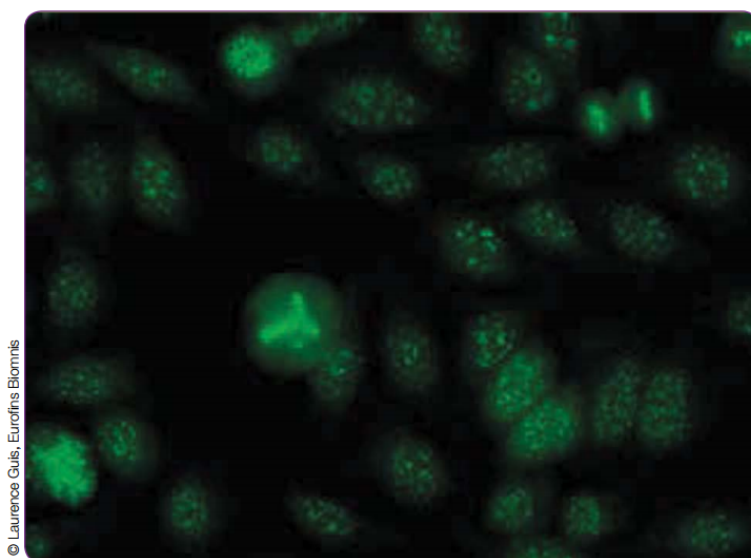


Figure 8 : aspect centromère.

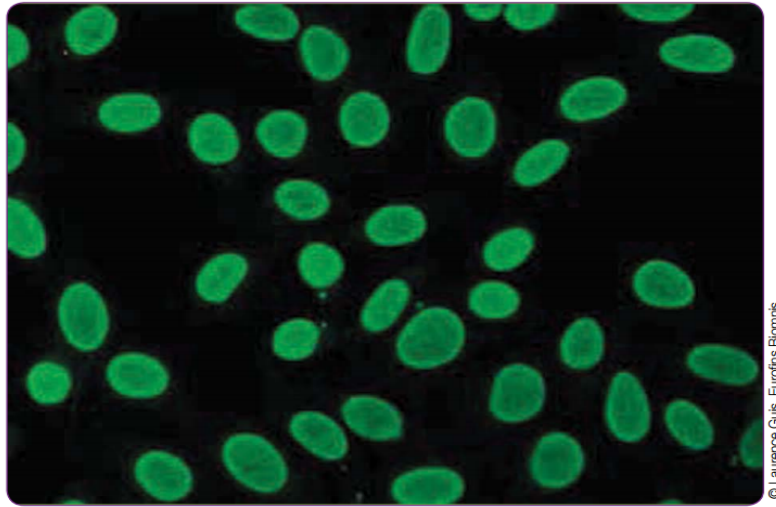


Figure 9 : aspect homogène.

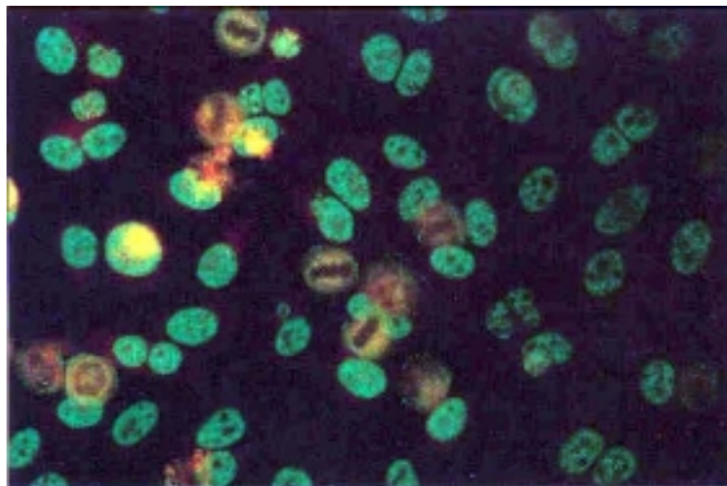


Figure 10 : Aspect moucheté

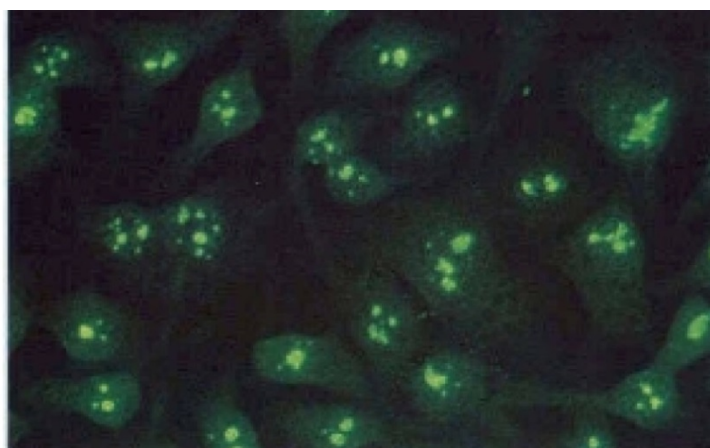


Figure 11 : Aspect nucléolaire

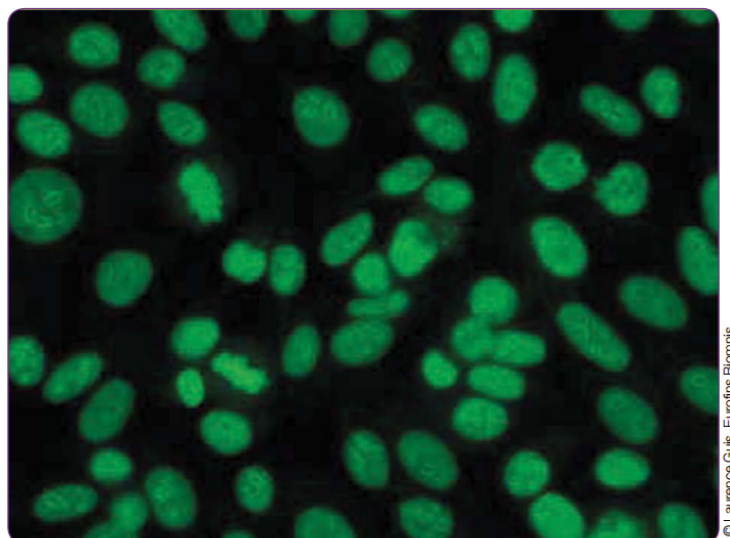


Figure 12 : AC Anti-Scl70

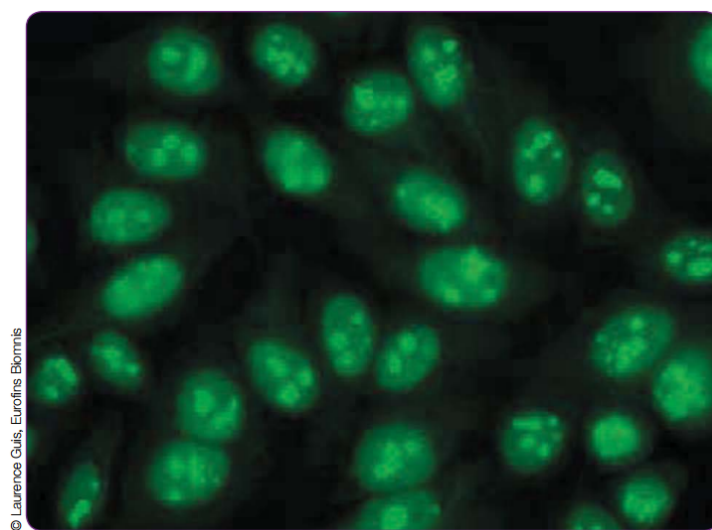


Figure 13 : AC anti-PMscl

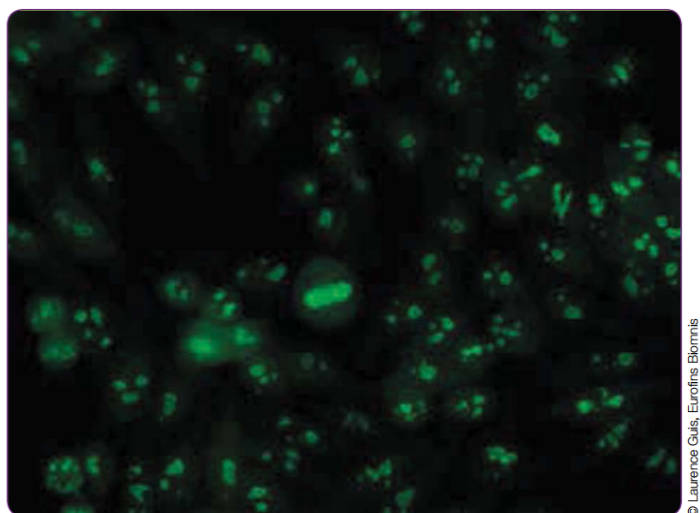


Figure 14 : AC anti-fibrillarine

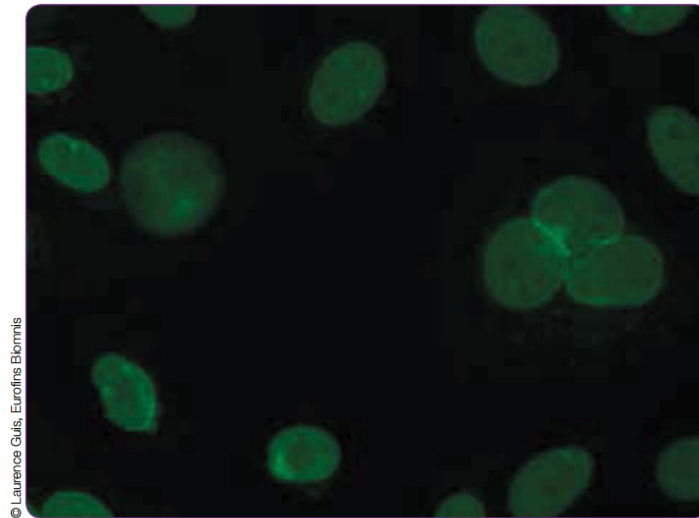


Figure 15 : AC anti-membrane nucléaire

➤ **Seuil de positivité des résultats**

Le choix de la dilution initiale pour le dépistage des AAN dépend principalement du substrat et de la méthodologie utilisés. Sur cellules HEp-2, la dilution au 1:80 est recommandée, mais une dilution plus faible, au 1:40 peut être préconisée dans certains cas, en particulier chez l'enfant. Un phénomène de zone peut exister, et bien qu'il soit exceptionnel, il faut savoir poursuivre les dilutions devant des manifestations cliniques évocatrices.

Toutefois, un titre faible en AAN (1/80) dans un contexte clinique évocateur conserve une valeur diagnostique forte, même si cette situation est peu fréquente. À l'inverse, un titre faible (1/80 ou 1/160) considéré isolément peut conduire à des erreurs diagnostiques graves. L'âge du sujet est également à prendre en compte dans la détermination du titre seuil de positivité car la fréquence des AAN augmente chez les sujets sains après 60 ans.

➤ Titre en anticorps

Si un anticorps est détecté, le sérum sera titré à partir de la dilution de départ en réalisant des dilutions croissantes, généralement de 2 en 2. Le **titre en anticorps** correspond à l'inverse de la dernière dilution du sérum donnant encore une fluorescence positive. Pour un titre élevé, le résultat peut être rendu supérieur ou égal à une dilution limite. Il n'existe pas de consensus quant au choix de cette **dilution limite** ($\geq 1:1000$ ou $1:10\ 000$). Une dilution au $1:1000$ est suffisante pour juger de la valeur d'un titre (titre élevé), pour différencier des aspects superposés de fluorescence, et orienter un diagnostic[34].

A. IF	Ac anti -	Maladie(s) associée(s) et prévalence	Signification clinique	
Homogène du noyau	ADNdb	LES : 25-60% (IFI sur <i>Crithidia luciliae</i>) 50-65 % (test de Farr) 75-85 % (ELISA)	Valeur diagnostique +++ pour le LES Observés dans les hépatites auto-immunes, le SGS ou induits par médicaments Titre souvent corrélé à l'activité du LES	C O N N E C T I V I T E S
	Histones	Pathologies diverses, auto-immunes ou non	Ac non spécifiques du lupus induit et sans intérêt en pathologie	
	Nucléosome	LES : 67-85 % ; LES sans Ac anti-ADNdb : 60 %	Utiles pour le diagnostic de LES si suspicion +++ et Ac anti-ADNdb négatifs	
Moucheté du noyau	Ro/SS-A (60)	SGS : 30-70 % ; LES : 20-30% Affections autres : lupus cutané subaigu : 70%	Critère diagnostique du SGS primaire Facteur de risque de lupus néonatal (bloc auriculo-ventriculaire congénital) Ac << anti-Ro/SS-A 52 >> (= anti-TRIM 21) sans intérêt en pratique	
	La/SS-B	SGS : 30-40 % ; LES : 10-20%	Toujours associés aux anti-Ro/SS-A =. Facteur de risque de lupus néonatal	
	U1-RNP	LES : 30% ; connectivité mixte : 100% Sclérodémie systémique : limitée : 3% ; Diffuse : 14 %	Nécessaires au diagnostic de la connectivité mixte	
	Sm(D)	LES : 2-10 % chez les caucasoïdes	Ac spécifiques du LES	
	PCNA	LES : 2-5%	Ac rarement observés en dehors du LES	
	Mi-2	Dermatomyosites : 10-20% ; polymyosites : < 5%	Ac spécifiques de la DM auto-immune.	
Nucléolaire	M+ PM-Scl	Syndrome de chevauchement Myosite-sclérodémie : 25% PM : 5% ; sclérodémie systémique : 3%	Marqueur diagnostique et pronostique avec incidence élevée de pneumopathie interstitielle et phénomène de Raynaud	
	H+ Scl-70	Sclérodémie systémique diffuse : 20-75 %	Valeur diagnostique +++ pour la SS diffuse Risque accru de fibrose pulmonaire et de cancer	
Cytoplasmique	ARNt synthétases (Jo-1, PL-7, PL-12...)	Polymyosites : anti-Jo-1 : 25 % ; autres : < 5 %. Syndrome des anti-ARNt synthétases (myosite, arthrite, Raynaud, fibrose pulmonaire, atteinte cutanée)	Marqueurs diagnostiques des PM/DM, du syndrome des anti-ARNt synthétases Valeur pronostique : fréquence accrue de fibrose pulmonaire.	H A I
Centromère		SS cutanée limitée (CREST syndrome) : 40-90% ; SS diffuse : 8 %. Parfois observés au cours dans le SGS, le LES	Marqueur de bon pronostic de la sclérodémie systémique Valeur prédictive ++	
Nucléoles		Sclérodémie systémique diffuse : 15-40% Parfois présents dans le SGS, le LES	Marqueur de mauvais pronostic : atteinte cardiaque, rénale, pulmonaire Observés lors d'infections, de cancers ou induits par des médicaments	
Membrane nucléaire		CBP : si Ac anti-M2+ : 6-14 %, si Ac M2- : 31-50 %	Valeur diagnostique++ des Ac anti-pores nucléaires (anti-gp210)	
(Multiple) nuclear dots		CBP : si Ac anti-M2+ : 12-24%, si Ac anti-M2- : 40%	Assez spécifiques de la CBP (Ac anti-Sp100)	
H ou M	Spécificité inconnue	Hépatites auto-immunes : 40-70 %.	Critère diagnostique des hépatites auto-immunes	

Tableau 8 : anticorps antinucléaires dépistés en immunofluorescence : cible et intérêt en pratique médicale[35].

ii Autres techniques de dépistage des anticorps anti-nucléaires

La recherche d'AAN peut également être réalisée par une technique immunoenzymatique de type ELISA ou par immunoempreinte (immunodot). Ces techniques utilisent comme préparation antigénique des extraits nucléaires ou des mélanges d'antigènes purifiés connus. Ces méthodes sont toutefois rarement utilisées en pratique courante. En effet, comparativement à l'IFI, la performance de ces tests appliqués au dépistage global des AAN est limitée par plusieurs facteurs : l'absence d'orientation diagnostique qui peut être apportée par l'aspect de la fluorescence, leur coût et le nombre très restreint d'antigènes lorsqu'il s'agit de mélanges.

2.1.2. Identification des anticorps anti-nucléaires

Lorsque le test de dépistage est positif, il faut alors envisager l'identification des AAN. Ces autoanticorps peuvent reconnaître un grand nombre d'épitopes distincts. Bien que la localisation et/ou l'aspect de la fluorescence ne permettent pas de préciser le ou les antigènes reconnus, ils permettent cependant une orientation diagnostique. En fonction de ces résultats et du contexte clinique, différents tests peuvent être pratiqués.

A Anticorps anti-ADN

L'ADN est associé aux histones dans les nucléosomes. Il peut se trouver soit sous forme monocaténaire (encore appelé ADN dénaturé ou ADN simple brin ou ssDNA, pour single stranded DNA), soit sous forme bicaténaire (dsDNA, ADNn).

Les AC anti-ADN sont mis en évidence en 1957 dans le sérum de patients lupiques par quatre équipes indépendantes, les AC anti-ADN peuvent être dirigés

contre l'ADN monocaténaire ou bicaténaire. Les Ac antiADN monocaténaire, souvent d'isotype IgM, appartiennent au répertoire des auto-Ac naturels, sont susceptibles de réactions croisées avec d'autres antigènes et peuvent être présents chez environ 20 % des sujets sains. Les Ac anti-ADNdb ont pour cible l'ADN double brin ou bicaténaire qui se présente sous une forme hélicoïdale droite appelée B-ADN ou gauche appelé Z-ADN. Ces Ac sont dirigés contre des épitopes seulement présents dans l'ADNdb, comme des sites de liaison entre bases complémentaires des deux brins d'ADN ou des structures conformationnelles de la double hélice [36, 37].

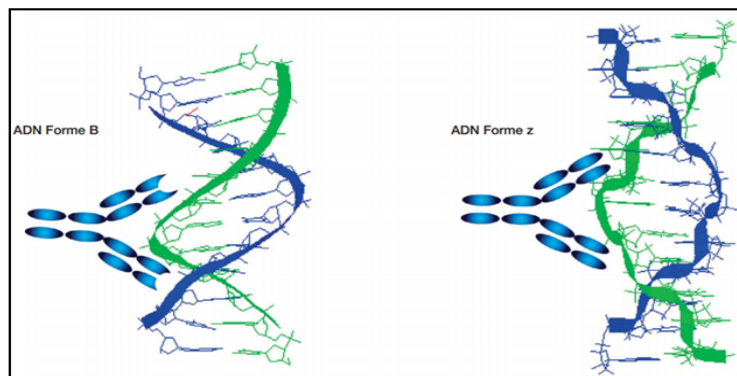


Figure 16 : différentes formes d'ADNdb reconnues par les auto-anticorps[36].

Les anticorps reconnaissant exclusivement l'ADN natif sont rares. La plupart des anticorps antiADN reconnaissent à la fois l'ADN natif et l'ADN dénaturé. La majorité des tests disponibles pour la recherche des anti-ADN est basée sur leur réactivité vis-à-vis de l'ADN de forme B. La recherche des anticorps anti-ADN dénaturé a peu de valeur diagnostique car ces autoanticorps sont fréquemment observés au cours de maladies inflammatoires, infectieuses et chez les sujets normaux.

En pratique quotidienne, quatre techniques sont utilisables pour la recherche des anti-ADN, la radioimmunologie (test de Farr), l'IFI sur *Crithidia luciliae*, l'immunoenzymologie (ELISA), et l'immunoempreinte. Ces tests ne sont pas équivalents. Certains détectent des anticorps anti-ADN de forte avidité (test de Farr), et d'autres à la fois des anticorps de forte et de faible avidité (IFI, ELISA, immunodot). Ces derniers tests sont moins bien corrélés à l'activité de la maladie.

	ADN	Affinité des Ac	méthode	Sensibilité/LES
IFI <i>Crithidia Luciliae</i>	ADN K (ADN circulaire et ADNdb du kinétoplaste)	Faible et haute	Semi-quantitative	10 à 60 %
Test de Farr	ADNdb	Haute	Quantitative	85 %
ELISA	ADNdb (purifié, recombinant ou synthétique)	Faible et haute	Quantitative ou semi-quantitative	70 à 98 %
Multiplex chimiluminescence	ADNdb synthétique	Faible et haute	Quantitative	40 à 72 %
Multiplex fluorimétrie en flux	ADNdb synthétique	Haute	Quantitative	45 à 70 %

Tableau 9 : Caractéristiques des principales méthodes de détection des Ac anti-ADNdb[36].

i Test de Farr

❖ Principe

Ce test consiste à incuber de l'ADN radiomarqué avec le sérum du patient. Les complexes ADN anti-ADN sont ensuite précipités par le sulfate d'ammonium ou le polyéthylène glycol. L'ADN non lié reste en solution. La radioactivité présente dans le précipité est directement proportionnelle à la quantité d'anticorps anti-ADN natif présents dans le sérum .

❖ Résultats et interprétation

Ce test est quantitatif, les résultats sont exprimés en unités internationales (UI/ml). Un résultat positif est hautement spécifique du LED. Ce test ne permet pas de différencier les anticorps antiADN d'isotype IgG ou IgM. Il implique des conditions techniques très rigoureuses en raison, notamment, du risque de dénaturation de l'ADN. L'interprétation de tests de Farr dans lesquels les sérums normaux donnent un fort pourcentage de précipitation est délicate[34].

ii L'immunofluorescence indirecte sur *Crithidia luciliae*

Les *Crithidia luciliae* sont des protozoaires flagelles de la mouche, non pathogènes pour homme, appartenant aux trypanosomides. Ces parasites se cultivent aisément in vitro dans des milieux contenant du sang : il est donc facile de réaliser des «préparations maison». Des lames commerciales sont également proposées ; le choix est difficile car les tests réalisés lors d'appel d'offres montrent que les résultats ne sont pas superposables. Les CL contiennent un noyau un kinétoplaste (taille et Localisation nettement différenciables) et un seul flagelle effilé, Le kinétoplaste est une mitochondrie géante modifiée contenant de l'ADN bicentenaire circulaire, pauvre en histones.

La contamination par les histones dépend du cycle de croissance, donc de la durée de culture du parasite.

❖ Principe

La recherche d'anticorps anti-ADN par IFI est réalisée à partir d'un substrat constitué d'un étalement de *Crithidia luciliae* fixés. Le sérum est mis en contact avec ce substrat. Les anticorps anti-ADN fixés au niveau de l'ADN du kinétoplaste sont ensuite révélés par un conjugué anti-Ig humaines marqué à la

fluorescénne . La lecture se fait au microscope à fluorescence. Ce test met en évidence des anticorps anti-ADN natif.

❖ Résultats et interprétation

- Un résultat négatif pour la recherche d'anticorps anti-ADN natif se caractérise par une absence de marquage du kinétoplaste.

- Un résultat positif se caractérise par une fluorescence nette du kinétoplaste qui peut avoir un aspect plein ou un aspect cerclé . Cette fluorescence doit être différenciée d'une fluorescence isolée ou concomitante du noyau et/ou du corps basal du flagelle. Une fluorescence du noyau et/ou du corps basal, sans fluorescence du kinétoplaste, est un résultat négatif quant à la recherche d'anticorps anti-ADN natif[34, 37].

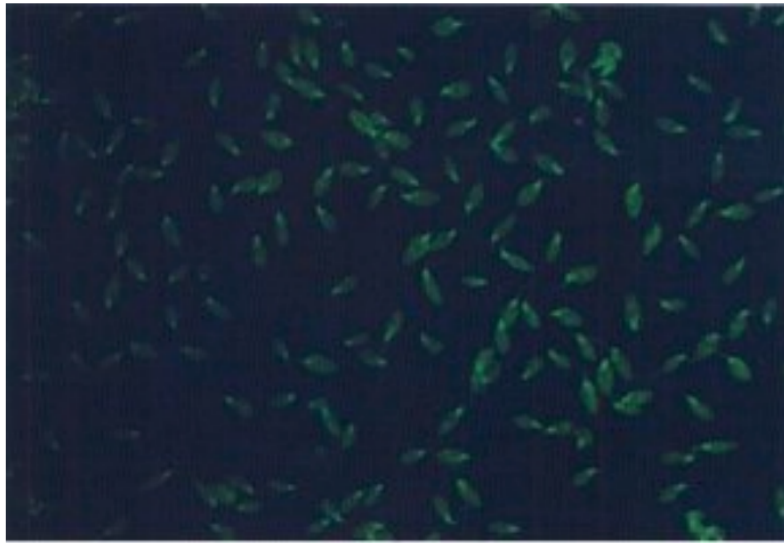


Figure 17 : : aspect négatif (fluorescence du corps parabasal et non du kinétoplaste)

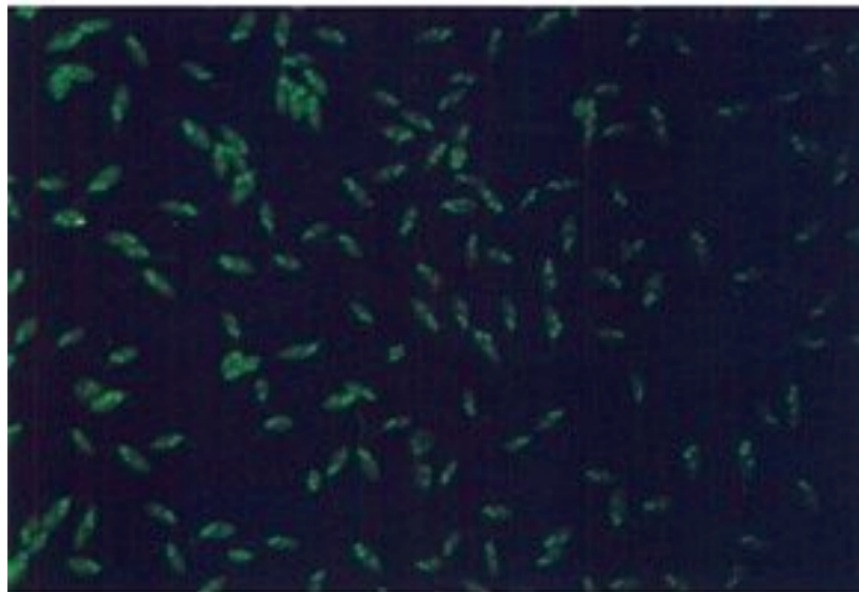


Figure 18 : aspect Positif (fluorescence intense du kinétoplaste)

iii Tests ELISA

❖ Principe

Les anticorps anti-ADN natif du sérum à étudier se lient à l'ADN natif fixé au fond des puits d'une plaque de microtitration. La fixation d'IgG anti-ADN natif est détectée par addition d'anticorps anti-IgG humaines marqué par une enzyme. Le substrat de l'enzyme (initialement incolore) devient coloré après action de l'enzyme. La lecture des densités optiques est faite à la longueur d'onde correspondant au substrat utilisé.

❖ Résultats et interprétation

Les anticorps anti-ADN dénaturé et anti-ADN natif appartiennent pour partie au répertoire normal des auto-anticorps naturels, la plupart étant des IgM de faible affinité. Parmi les patients ayant un LED, 60 à 85 % ont des anticorps anti-ADN natif d'isotype IgG. Les IgM anti-ADN natif ont une faible valeur diagnostique car ils peuvent être détectés au cours d'autres connectivites que le lupus, et également au cours d'infections virales. La gravité du diagnostic ainsi que les conséquences thérapeutiques qui en découlent justifieraient que la recherche de ces autoanticorps soit réalisée par deux techniques distinctes utilisant une méthodologie différente (ELISA et IFI par exemple).

iv Immunodot

❖ Principe

L'immunodot repose sur un principe voisin de l'ELISA, mais l'antigène dans ce cas est déposé sur une bandelette de nitrocellulose. Le sérum est mis en contact avec ce support, et les anticorps antiADN fixés sont ensuite révélés avec un anticorps anti-Ig humaine marqué par une enzyme. La lecture de la coloration est effectuée à l'œil comparativement à des témoins négatifs et positifs. L'utilisation d'un lecteur (scanner) est possible.

❖ Résultats et interprétation

Il s'agit d'un test **qualitatif** permettant la détection des anticorps anti-ADN natif. La réaction positive se caractérise par une réaction colorée au niveau du dépôt de l'antigène. Une limite à l'interprétation de ces tests est liée à la subjectivité de la lecture visuelle, en particulier pour les faibles taux d'anticorps, d'où une fiabilité limitée[34].

B Ac anti-nucléosomes

Le nucléosome constitue l'unité fondamentale de la chromatine et le premier niveau de compaction de l'ADN (figure 21). Il est constitué d'un noyau central composé d'octamère d'histones (2 H2A, 2 H2B, 2 H3 et 2 H4) et de 1,7 tour de spires d'ADN en double hélice (146 paires de bases). Une histone extranucléosomique, H1, qui permet le compactage de la chromatine, est accolée à la partie externe du nucléosome et ferme l'ensemble. L'association nucléosome et histone H1 est appelée chromatosome. Chaque chromatosome est relié à un autre chromatosome par une courte séquence d'ADN internucléosomique d'environ 20 à 80 paires de bases, formant le nucléofilament. Cependant les nucléosomes diffèrent en fonction des tissus et des cellules et apparaissent comme des structures plastiques et dynamiques qui se modifient constamment en fonction de l'activité de la chromatine. Les cibles antigéniques reconnues par les Ac anti-nucléosomes restent de ce fait, mal définies : histones modifiées, protéines non histones, épitopes conformationnels présents sur les structures tertiaire et quaternaire des nucléosomes comme les complexes (H2A-H2B)-ADN ou (H3-H4)-ADN). Les Ac anti-nucléosomes ne sont, par définition, pas dirigés contre les histones ou l'ADN pris individuellement.

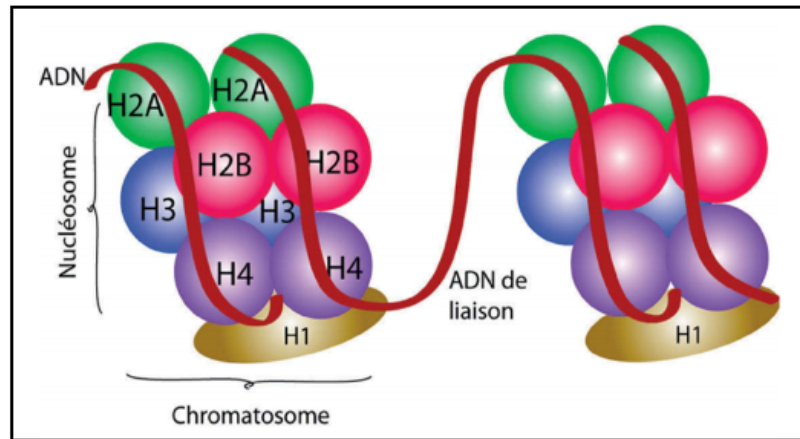


Figure 19 : Représentation schématique d'un nucléosome et de la liaison entre 2 nucléosomes.

❖ Principe :

Ces Ac sont actuellement détectés par ELISA, par immunodot, ou par des systèmes automatisés basés sur la fluorimétrie en flux. Les tests disponibles sur le marché utilisent comme antigène des nucléosomes obtenus par extraction à partir de la chromatine provenant de lignées cellulaires (cellules HeLa) ou d'organes animaux (principalement thymus de veau). Lorsque les nucléosomes sont extraits de la chromatine, selon le protocole utilisé, on peut obtenir une préparation de nucléosomes soit pure, soit plus ou moins contaminée par des subnucléosomes et des complexes d'histones. Bizzaro et al ont montré que la spécificité diagnostique des Ac anti-nucléosomes pour le LES est plus élevée si l'antigène utilisé est dépourvu d'histone H1 (95,7 % vs 87,5 %). De même, Suer et al ont mis en évidence que la réactivité des Ac anti-nucléosomes chez les patients atteints de sclérodémie systémique était due à la présence de l'histone H1 dans la préparation antigénique utilisée pour la recherche de ces Ac.

❖ Résultats et interprétation :

De nombreuses études se sont attachées à déterminer l'intérêt de la recherche des Ac anti-nucléosomes dans la prise en charge du LES, ces études diffèrent par les techniques utilisées ou par les critères d'évaluation de l'activité de la maladie, rendant leur comparaison parfois difficile. Les Ac anti-nucléosomes présentent au diagnostic une sensibilité de 45 à 100 % et une spécificité de 73 à 100%. De même les Ac anti-nucléosomes ont été décrits dans de nombreuses maladies autoimmunes. Leur prévalence est de 5 à 10 % dans la polyarthrite rhumatoïde (PR) avant traitement et de 15 à 30 % dans la PR sous traitement par anti-TNF α , 7% dans le syndrome primaire des antiphospholipides (SAPL) et le Gougerot-Sjögren, 8 à 45% dans la connectivite mixte[36]

C Anticorps anti-histones

Les anticorps anti-histones regroupent une population très hétérogène d'autoanticorps réagissant avec les cinq groupes d'histones mais également avec des déterminants conformationnels résultant de l'association des histones entre elles ou avec l'ADN (nucléosomes).

❖ Principe

Les anticorps anti-histones sont principalement recherchés par des techniques ELISA utilisant comme antigène une préparation d'histones (mélange de deux histones différentes ou plus). Dans ces conditions, l'exposition des différents épitopes varie. Elle est très différente de celle *in vivo* et la réactivité des sérums varie considérablement selon les mélanges utilisés.

❖ Résultats et interprétation

Les AAH font actuellement partie des anticorps les plus prévalent dans le LES avec une fréquence de 50 à 70 % chez les patients non sélectionnés et plus de 80 % chez les patients en phase active de la maladie. La présence des AAH anti-H2A-H2B de la classe IgG est corrélée aux formes symptomatiques des lupus induits par la procainamide, la quinidine et la D-penicillamine. Ils sont aussi retrouvés dans le lupus systémique avec une fréquence de 15 à 20% [37].

D Anticorps anti-antigènes nucléaires solubles :

La première description des anticorps anti-ENA ((extractable nuclear antigen) date de 1959 par Holman et coll. qui utilisaient une réaction d'immunoprécipitation entre des sérums de patients lupiques et un extrait antigénique de thymus de veau.

Il n'y a pas de règle pour la dénomination des anticorps anti-ENA :

- Certains sont désignés par la première lettre du nom du malade chez lequel a été mis en évidence l'anticorps correspondant (exemple : anti-Sm).
- D'autres sont désignés par la nature de la maladie à laquelle leur présence est associée (SS pour syndrome de Sjögren).
- D'autres enfin sont désignés par la nature moléculaire de l'antigène (RNP pour ribonucléoprotéine) ou par leur masse moléculaire (exemple : 68 kDa).

On décrit des anticorps anti-SSA/Ro60, anti-SSB/La, anti-Sm, anti-U1RNP (composé des sous-unités protéiques 70 kDa, A et C), anti-ADN-topoisomérase 1 (Sc170) et également Contre l'antigène cytoplasmique histidyl-aminoacyl

transférase (Jo1). L'identification des anti-ENA a un grand intérêt car ils peuvent être de bons marqueurs diagnostiques, parfois spécifiques et parfois à valeur pronostique, de différentes maladies systémiques. Ainsi, les anti-Sm sont des marqueurs spécifiques du lupus érythémateux systémique et les anti-ADN-topoisomérase 1 (anti-Scl70) sont spécifiques des sclérodermies systémiques.

Ces anticorps correspondent souvent à une fluorescence mouchetée en IFI. Certains de ces anticorps ne sont pas exclusivement nucléaires mais peuvent être également cytoplasmiques[38, 39].

Méthodes de détection :

En pratique de routine, on utilise le plus souvent des techniques de précipitation en milieu gélifié : immunodiffusion double selon la méthode d'Ouchterlony, ou électrosynérèse (encore appelé contre-immunoélectrophorèse) en gel d'agarose.

L'identification des anti-ENA est basée sur la notion de continuité entre l'arc de précipitation du sérum à étudier et les arcs donnés par des sérums de référence de spécificités connues. Les tests en phase solide (Elisa, immunoempreintes, immunodot), dont certains sont commercialisés, ne se pratiquent qu'en deuxième intention.

a. Précipitation en milieu gélifié

Les méthodes de précipitation en milieu gélifié permettent soit l'analyse qualitative d'un mélange d'antigènes, soit le dosage immunochimique d'un antigène donné. Cela suppose que l'on ait des anticorps, le plus souvent de nature polyclonale, qui soient précipitants, ce qui est le plus souvent le cas des anti-ANS contenus dans le sérum des patients.

(i) Immunodiffusion double d'Ouchterlony (IDD) :

Cette réaction mise au point par Ouchterlony consiste à déposer des préparations d'antigènes et des anticorps (sérum de patients) dans des puits creusés en regard dans un gel d'agarose. Les molécules diffusent uniquement en fonction de leur poids moléculaire et il se forme des lignes de précipitation pour chaque système antigène-anticorps aux zones d'équivalence respectives. Cette méthode permet, en disposant alternativement les sérums témoins et ceux à analyser au sein d'une rosace de six puits périphériques disposés autour d'un puits central contenant la solution antigénique, d'étudier les identités entre les différents constituants reconnus[39] .

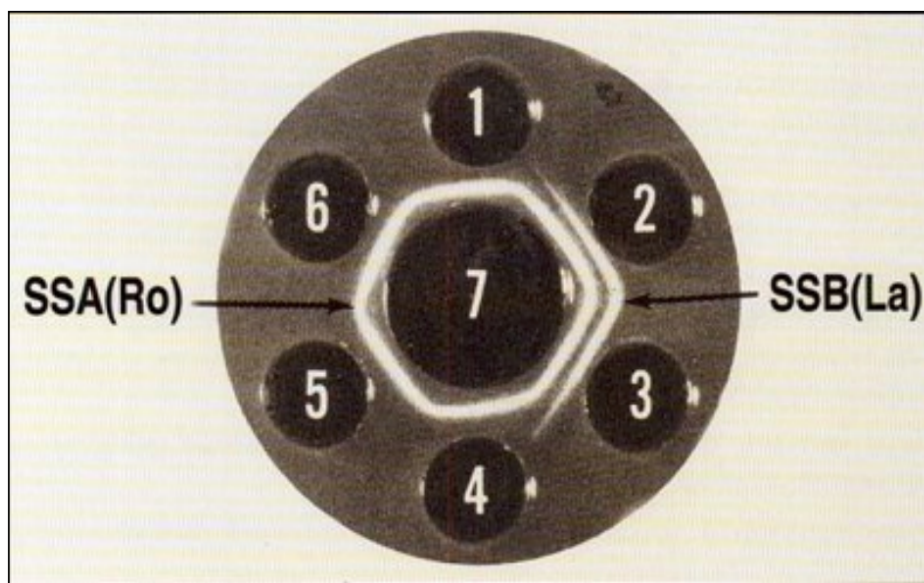


Figure 20 : Immunodiffusion double d'Ouchterlony pour la recherche et l'identification d'anticorps anti-antigènes nucléaires solubles[34].

Dans le puits central (n ° 7) est déposée la préparation antigénique.

Dans les puits 1 et 5 : sérum de référence contenant des anticorps anti-SS A.

Dans le puits 3 : sérum de référence contenant des anticorps anti-SS A et anti-SS-B.

Dans les puits 4 et 6 : sérums testés contenant des anticorps anti-SS A (un arc de précipitation en réaction d'identité totale avec le sérum de référence).

Dans le puits 2 : sérum contenant des anticorps anti-SS A et anti-SS-B (deux arcs de précipitation en réaction d'identité totale avec les sérums de référence).

Lorsque deux sérums déposés dans des puits adjacents reconnaissent le même antigène de façon identique par les anticorps des patients, les arcs de précipitation sont continus, car on a affaire à un seul et même système antigène-anticorps, on parle de réaction d'identité antigénique. Au contraire, lorsque deux antigènes différents sont reconnus par les anticorps de deux sérums différents, on obtient l'image typique de non-identité : les deux systèmes antigène-anticorps sont totalement distincts et donc les deux arcs de précipitation se développent chacun pour son propre compte et vont se croiser. Enfin, si la reconnaissance n'est partagée que pour certains des épitopes, la situation est intermédiaire et il y aura formation d'un arc continu agrémenté d'un éperon surajouté traduisant la présence dans le sérum correspondant d'anticorps reconnaissant d'autres épitopes supplémentaires du même système antigénique ; il s'agit alors d'une réaction d'identité partielle.

(ii) L'électrosynérèse :

L'électrosynérèse, encore appelée contre-immunoélectrophorèse (CIEP), est une variante de l'immunodiffusion double dans laquelle la migration de l'antigène vers l'anticorps est accélérée dans un champ électrique, après choix judicieux du pH de l'agarose ; ceci permet une migration l'un vers l'autre de l'antigène, chargé négativement, et de l'anticorps charge positivement. Cette technique est 10 à 20 fois plus sensible et beaucoup plus rapide (délai de réponse en une journée) que l'immunodiffusion double.

L'anticorps migre vers la cathode (pôle négatif) en raison du courant d'électro-endosmose, alors que le pH est choisi délibérément, à mi-chemin des pôles respectifs, de telle sorte que l'antigène migre vers l'anode (pôle positif) : il rencontre donc l'anticorps et forme un arc de précipitation au niveau de la zone d'équivalence [39].

b. Technique ELISA :

❖ Principe

Contrairement à l'IDD et la CIEP qui reposent sur l'immunprécipitation en milieu gélifiée, l'Elisa est un test en phase solide qui ne nécessite pas que les auto-anticorps à détecter soient précipitants. Détectant des anticorps de faible affinité, il augmente la sensibilité. Il a comme inconvénient de diminuer la spécificité des marqueurs détectés et de dépendre pour la pertinence des résultats de la qualité de l'antigène utilisé (perte des épitopes conformationnels possible).

❖ Résultats et interprétation

Les résultats sont exprimés en unités arbitraires dont le mode de calcul dépend de la trousse utilisée. Parfois, les résultats sont qualitatifs et exprimés par rapport à la densité optique lue pour des témoins connus positifs et négatifs.

La qualité des résultats peut être influencée par des fixations non spécifiques sur le support, la présence dans le sérum de complexes immuns (Ig agrégées), de facteurs rhumatoïdes et/ou de cryoglobulines. Ces interférences peuvent en partie être décelées par l'utilisation en parallèle de puits non recouverts d'antigènes, ces contrôles n'étant malheureusement pratiquement jamais proposés dans les différentes trousse commerciales.

c. Immunodot

❖ *Principe :*

Dans l'immunodot les antigènes purifiés sont déposés à égale distance sur des bandes de nitrocellulose, sous forme de tâches (dot) ou de bandes. Le sérum est mis en contact avec le support, et la fixation d'anticorps spécifiques est révélée avec un conjugué anti-Ig humaine marqué par une enzyme. Après addition du substrat de l'enzyme, la lecture de la coloration est effectuée à l'œil comparativement à des témoins négatifs et positifs. L'utilisation d'un lecteur (scanner) est possible.

❖ Résultats et interprétation

Une réaction positive se caractérise par une coloration au niveau du dépôt de l'antigène. Une limite à l'interprétation de ces tests est liée à la subjectivité de la lecture visuelle, en particulier pour les faibles taux d'anticorps [34, 39].

d. Immunotransfert

❖ Principe

Les différents constituants d'une préparation antigénique sont séparés en fonction de leur masse moléculaire par électrophorèse en gel de polyacrylamide en condition dénaturante, puis transférés sur une membrane de nitrocellulose. Sur cette membrane est ensuite effectuée la réaction immunologique

❖ Résultats et interprétation

La spécificité des anticorps est définie uniquement en fonction des masses moléculaires des protéines reconnues (exprimées en kDa), comparativement à des témoins de masse moléculaire. Lors de la séparation électrophorétique, les protéines et les complexes macromoléculaires subissent une dénaturation. Certains épitopes peuvent ne plus être reconnus par les autoanticorps (antigène SS-A par exemple) ou bien donner lieu à la présence de plusieurs bandes différentes. À l'inverse deux antigènes différents peuvent avoir la même masse moléculaire (l'anticorps anti-SS-A et l'anticorps anti-Jo1 reconnaissent tous les deux une protéine de 50 kDa). L'ensemble de ces constatations fait que l'interprétation de ces immunotransferts nécessite beaucoup de prudence[34].

2.2. Anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles (ANCA)

Les anticorps anticytoplasme des polynucléaires neutrophiles (antineutrophil cytoplasmic autoantibodies [ANCA]) sont des auto-anticorps dirigés contre des antigènes présents dans le cytoplasme des polynucléaires neutrophiles (PNN) et dans les monocytes. Les PNN jouent un rôle majeur dans l'immunité innée car ce sont les premiers leucocytes à être recrutés sur le site

inflammatoire. Ils sont capables de phagocyter des microorganismes et les détruire grâce à leurs enzymes lytiques. Les ANCA sont des auto-anticorps dirigés contre certaines de ces enzymes. Les deux cibles antigéniques majeures sont la myéloperoxydase (MPO) et la protéinase 3 (PR3) mais il existe de nombreuses cibles mineures. Quatre d'entre elles peuvent être recherchées en pratique courante : la bactericidal permeability increasing protein (BPI), la cathepsine G, l'élastase et la lactoferrine. Les ANCA sont particulièrement associés aux vascularites nécrosantes primitives (micropolyangéite [MPA], maladie de Wegener et syndrome de Churg et Strauss [CSS]). Ils ont été également mis en évidence au cours de processus infectieux et dans d'autres pathologies auto-immunes[40].

2.2.1. Recherche des ANCA :

Comme pour tous les autoanticorps, l'examen de première intention est l'immunofluorescence indirecte (IFI). Les ANCA, tout comme les anticorps antinucléaires (AAN), sont une famille d'autoanticorps dirigés contre des cibles variées, responsables d'aspects différents.

Le dépistage des ANCA par l'immunofluorescence indirecte (IFI) consiste à déposer le sérum du patient sur une lame contenant des polynucléaires humains de sujets sains de groupe O fixés à l'éthanol. Compte tenu des difficultés de lecture, notamment liées à la présence d'anticorps antinucléaires (AAN), d'autres fixateurs peuvent être utilisés comme le formol ou le méthanol. Le sérum doit être dilué dans du tampon phosphate salin (PBS) à une dilution initiale de 1/20. Un antisérum constitué d'anticorps anti-immunoglobulines humaines est mis en contact du sérum du patient. Cet antisérum est conjugué à un fluochrome permettant de révéler par fluorescence la présence des auto-anticorps. La lecture se fait au microscope à fluorescence au grossissement 400, avec ou sans immersion.

La deuxième étape obligatoire est donc la caractérisation de la cible reconnue par un test en phase solide, que ce soit un test ELISA, un immunodot, un test fluorométrique ou par multiplexage. La pertinence clinique du résultat nécessite l'association de l'IFI et d'un test en phase solide, ce qui a été acté en 1999 par un groupe international d'experts. Associant IFI et ELISA, la recherche des ANCA a une sensibilité de 73 % pour la maladie de Wegener et de 67 % pour la micropolyangéite avec une spécificité de 99 %. L'indication de la recherche des ANCA par cette double stratégie initialement restreinte aux seules vascularites primitives des petits vaisseaux a été élargie en 2003 par le même groupe d'experts aux autres pathologies inflammatoires[40, 41].

2.2.2. Résultats et interprétation :

Trois types d'ANCA ont été définis selon l'aspect de la fluorescence :

- l'aspect c-ANCA (cytoplasmiques) (figure 23): défini par une fluorescence fine et granuleuse du cytoplasme. Le plus souvent de spécificité anti-PR3, ils sont spécifiques de la maladie de Wegener (90 %). Ils peuvent aussi être observés dans la polyangéite microscopique (30 %), dans le syndrome de Churg et Strauss (10 %) et dans la PAN (< 10 %)

- l'aspect p-ANCA (périnucléaires) (figure 24) : caractérisé par une fluorescence autour du noyau sans marquage cytoplasmique. Le plus souvent de spécificité anti-MPO, ils sont associés à la polyangéite microscopique (70 %), au syndrome de Churg et Strauss (60 %), aux vascularites rénales primitives (60%) et à la PAN (< 5 %)

- l'aspect a-ANCA (atypiques) (figure 25): défini soit par une fluorescence cytoplasmique fine à discret renforcement périnucléaire, soit par l'association

d'une fluorescence cytoplasmique et périnucléaire ou d'un simple marquage de la membrane nucléaire. Ils correspondent le plus souvent aux Ac dirigés contre d'autres cibles : élastase, cathepsine G, lysozyme, BPI, et sont détectés au cours de la rectocolite hémorragique (RCH : 50 %), de la maladie de Crohn (20 %), de certaines infections et prises médicamenteuses[2].

Une recherche d'AAN sur cellules HEp2 doit toujours être effectuée en parallèle. Le titrage est réalisé sur des PNN fixés à l'éthanol. Une dilution permet de définir le titre. La cible antigénique reconnue par un ANCA se cherche par des tests en phase solide d'immunomarquage (Elisa, immunodot, multiplexage), dans lesquels l'antigène est fixé directement ou indirectement à un support solide.

Les avantages en sont de quantifier le titre des anticorps de manière indépendante d'une lecture subjective au microscope et de permettre la définition de l'antigène en cause[42].

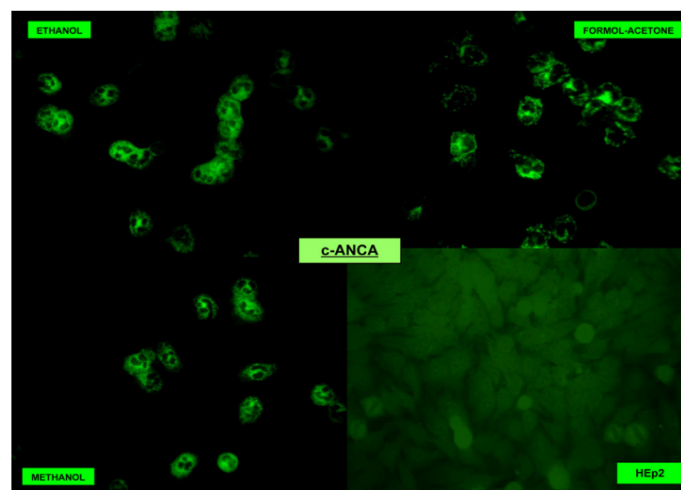


Figure 21 : Aspect cytoplasmique c-ANCA

L'aspect c-ANCA est inchangé avec les 3 types de fixateurs (éthanol, méthanol et formol-acétone). La fluorescence est cytoplasmique, granulaire, avec un renforcement interlobaire et les noyaux apparaissent en « négatif ». Les cellules HEp2 visualisent les éventuels anticorps antinucléaires associés. ANCA: anticorps anticytoplasme des polynucléaires neutrophiles.

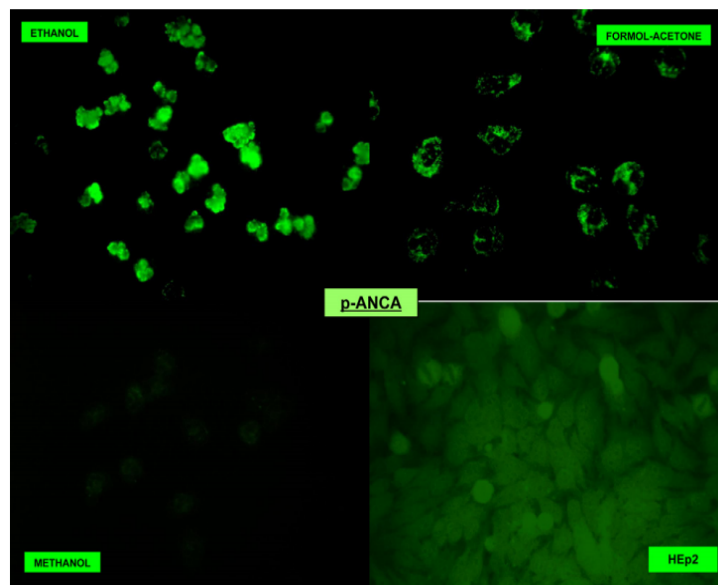


Figure 22 : Aspect périnucléaire p-ANCA

En éthanol, les cytoplasmes sont négatifs et la fluorescence marque les noyaux de manière hétérogène avec une intensité maximale en périphérie, donnant l'aspect périnucléaire. L'aspect p-ANCA devient cytoplasmique c-ANCA en formol-acétone et disparaît en méthanol. ANCA : anticorps anticytoplasme des polynucléaires neutrophiles.

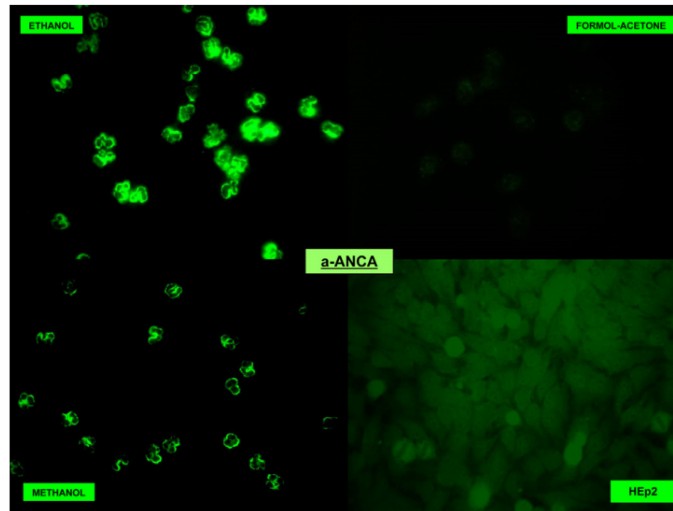


Figure 23: Aspect périnucléaire atypique a-ANCA

En éthanol et en méthanol, seul le contour des lobes nucléaires est souligné. Ce liséré nucléaire plus ou moins épais devient cytoplasmique c-ANCA ou se négative avec le formol[40].

✓ Difficultés d'interprétation

La présence gênante d'AAN est une difficulté majeure. D'autres autoanticorps sont aussi susceptibles de rendre malaisée la lecture de la fluorescence. Comme les anticorps anti-ribosome qui peuvent donner une fluorescence cytoplasmique atypique des PNN, mais aussi des lymphocytes contaminants. Les anticorps anti-muscle lisse de spécificité anti-actine donnent aussi un marquage de type c-ANCA.

Enfin, difficulté qui n'en n'est pas une, mais plutôt une particularité à connaître : les anticorps anti-centromère donnent sur PNN fixés par l'éthanol principalement, plus faiblement pour ceux fixés par le méthanol, mais pas sur ceux fixés par le formol, plusieurs dizaines de spots brillants accrochés à la

membrane des lobes nucléaires. Une telle image doit inviter à leur recherche spécifique sur cellules HEp-2 s'ils ne sont pas déjà connus[41].

2.2.3. Identifier les Ag cibles

La démarche consiste à rechercher les ANCA sur PNN fixés à l'éthanol. La fluorescence est cytoplasmique (c-ANCA) ou périnucléaire (p-ANCA).

- devant des c-ANCA : effectuer un test Elisa antiPR3, principale cible antigénique ;

- devant des p-ANCA : faire un Elisa anti-MPO.

Parallèlement, tester sur PNN fixés au formol-acétone : si la fluorescence apparaît plus ou moins périnucléaire, il s'agit d'ANCA atypiques (titration sur PNN/éthanol), surtout intéressants dans le contexte des MICI.

Si les Elisa anti-PR3 et anti-MPO sont négatifs, tester les autres cibles antigéniques : BPI (bactericidal/permeability-increasing protein), cathepsine G, élastase, lactoferrine[43].

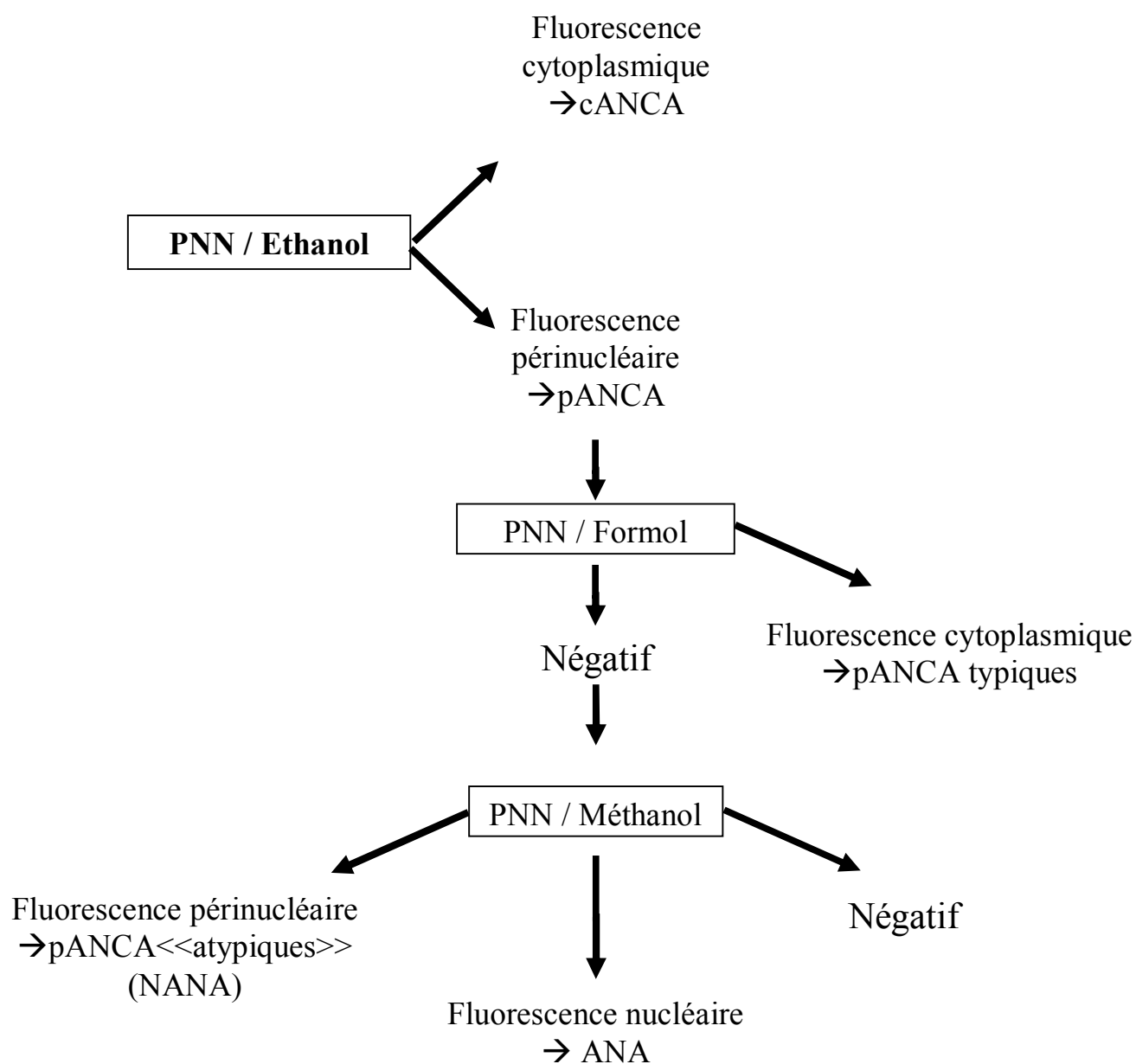


Figure 24 : Stratégie de détection des ANCA[44].

2.3. Auto- anticorps antiphospholipides :

Les anticorps antiphospholipides (APL) reconnaissent des phospholipides anioniques et neutres qui sont pour la plupart des constituants des membranes plasmiques cellulaires. Ces anticorps exposent à la survenue d'accidents thrombotiques veineux et/ou artériels et à des complications obstétricales. Leur présence associée à ce type d'événements cliniques correspond au syndrome des antiphospholipides (SAPL) qui peut être isolé, et qualifié alors comme primaire, ou associé à un lupus. Il existe de nombreuses situations où des APL peuvent être présents, parfois transitoirement, comme au cours d'une infection par le virus de l'immunodéficience humaine ou le virus de l'hépatite C, ou lors de la prise de certains médicaments comme les neuroleptiques. Ils peuvent aussi être présents au cours de certaines vascularités comme la maladie de Horton, ou lors de certaines hémopathies lymphoïdes ou de cancers. Dans toutes ces situations, il est rare que les APL soient associés à la survenue d'événement thrombotiques. Les seuls APL utilisés pour porter le diagnostic de SAPL en pratique courante sont l'anticoagulant circulant lupique (LA) et les anticorps anticardiolipines (ACL). Ce sont en effet les seuls APL dont les techniques de recherche sont standardisées. Ces 2 types d'anticorps sont souvent présents chez un même malade mais ils peuvent être isolés. Des anticorps dirigés contre d'autres substances phospholipidiques telles que la phosphatidylsérine ou la phosphatidyléthanolamine peuvent être recherchés, mais uniquement dans le cadre de protocoles de recherche.

Plus récemment, il a été démontré que les APL ne sont pas directement thrombogènes mais agissent par l'intermédiaire de cofacteurs protéiques dont le plus important est la $\beta 2$ glycoprotéine (GP). Seuls les ACL dépendants de la

β 2GPI auraient une réelle signification pathologique mais les mécanismes par lesquels ils interagissent avec la β 2GPI pour aboutir à la formation de thrombus reste discutés[45].

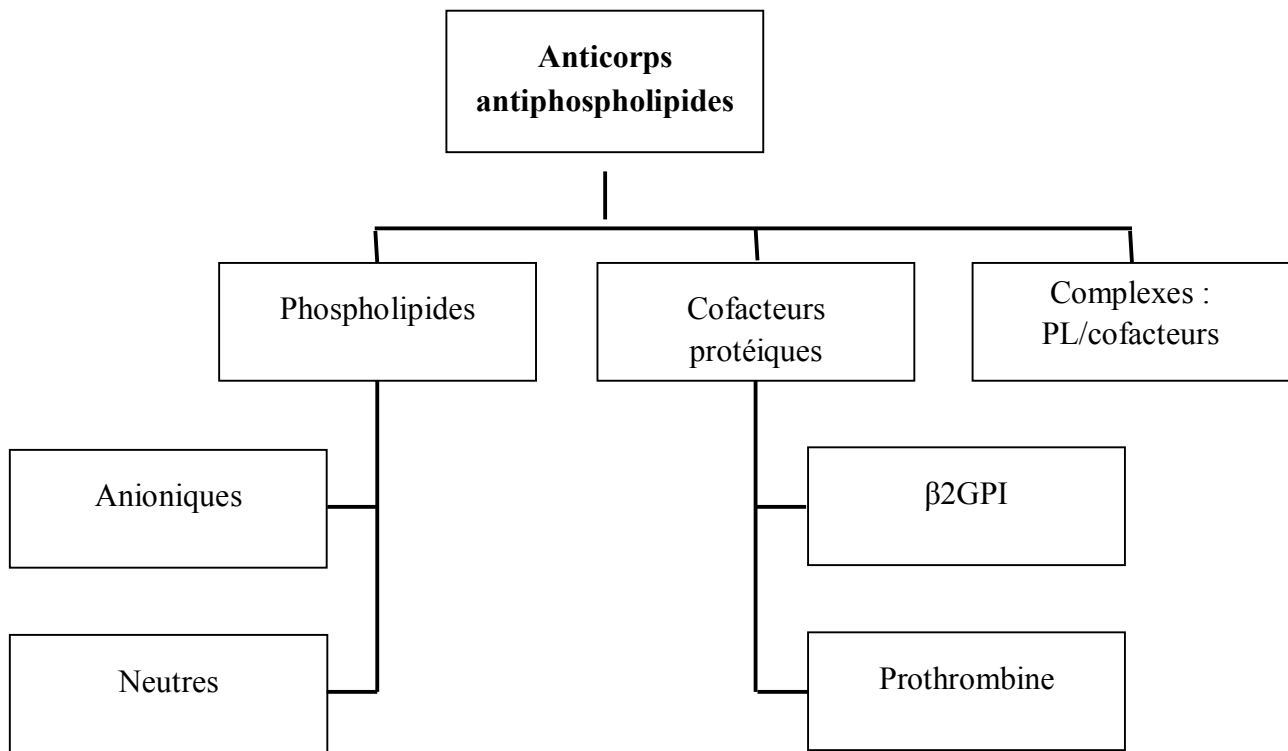


Figure 25 : Les diverses cibles antigéniques des anticorps antiphospholipides[46]

2.3.1. Recherche et interprétation :

i. Anticoagulants circulants lupiques :

Les anticoagulants circulants lupiques sont caractérisés par leur action anticoagulante in vitro, c'est-à-dire leur capacité à allonger le temps des tests de coagulation, en particulier ceux dépendant de la présence de phospholipides. Bien qu'ils soient anticoagulants in vitro, les anticoagulants circulants lupiques favorisent la thrombose in vivo.

La détection des anticoagulants circulants lupiques dans le plasma repose sur une démarche en plusieurs étapes passant par un dépistage simple basé sur des tests d'hémostase de routine, puis par des tests plus spécifiques. Ces différentes étapes ont fait l'objet de recommandations par l'International Society on Thrombosis and Haemostasis.

La première étape consiste en un dépistage par la recherche d'un allongement du temps de coagulation lors de test(s) de coagulation faisant intervenir des phospholipides, la deuxième étape est la mise en évidence d'une activité inhibitrice par l'absence de correction de l'allongement du temps de coagulation après l'adjonction d'un plasma normal, la troisième étape est la confirmation de la dépendance en phospholipides de l'inhibiteur de la coagulation en corrigeant le temps de la coagulation en présence d'un excès de phospholipides, enfin, la dernière étape consiste en l'exclusion d'une autre anomalie de la coagulation associée aux anticoagulants circulants lupiques.

L'un des tests peut cependant être normal et, devant une situation clinique évocatrice de SAPL, il ne faut donc pas éliminer la présence d'un LA devant un TCA normal mais multiplier les tests[47].

ii. Anticorps anti-cardiolipine

Le cardiolipide (terme français) ou cardiolipine (terme anglais) est un phospholipide anionique présent dans la membrane interne des mitochondries mais absent sur la membrane des plaquettes et des cellules endothéliales. Le nom dérive de sa description initiale dans les mitochondries des cellules cardiaques. La cible antigénique des anticorps anti-cardiolipine est en réalité un complexe cardiolipine-cofacteur(s) sérique(s). La β 2GPI ou apolipoprotéine H, est le principal cofacteur des anticorps anticardiolipine[47]. Dans le test Elisa aCL historique, l'essentiel de la β 2GPI présente était apportée par le tampon de

saturation et de dilution des échantillons contenant du sérum animal. Depuis les années 2000, les fabricants de tests ELISA ajoutent dans leurs kits de la β 2GPI humaine afin de détecter les anticorps aCL dépendant de la β 2GPI humaine, plus prédictifs du risque thrombotique.

Les tests Elisa aCL conventionnels ou les tests immunologiques plus récents (chimiluminescence, billes multiplex), mettent en évidence, sans permettre de les distinguer, au moins trois types d'anticorps :

- ceux qui reconnaissent le domaine 1 de la β 2GPI qui sont les plus pathogènes et se rencontrent dans le syndrome des antiphospholipides associés ou non au lupus érythémateux systémique (LES). Ces anticorps sont essentiellement d'isotype IgG, de sous classe IgG2, pouvant être associés à la présence d'IgM, et leur présence est durable. La présence isolée d'aCL d'isotype IgM dans le SAPL est une situation peu fréquente, rencontrée chez 12,2 % des 1000 patients avec SAPL de la cohorte européenne;

- ceux reconnaissant les autres domaines de la β 2GPI dont la signification pathologique n'est pas établie ;

- ceux reconnaissant uniquement la cardiolipine de façon indépendante de la β 2GPI (« vrais » aCL) qui sont observés dans les infections. Ils sont d'isotype IgM ou IgG de sous-classe IgG3 et présents de façon transitoire (disparaissent en 8 à 10 semaines). Certaines infections chroniques (infection par le VIH, lèpre) peuvent s'accompagner d'aCL persistants dans le temps. Des aCL reconnaissant la β 2GPI s'observent dans deux infections : la lèpre et l'infection par le parvovirus B19.

Les tests Elisa aCL ne détectent pas les anticorps dirigés contre la prothrombine qui sont détectés par un Elisa spécifique [48].

iii. Anticorps anti-β2GPI

La β2GPI est une apolipoprotéine présente dans le plasma de sujets normaux avec une concentration moyenne de 200g/ml. Elle est constituée d'une seule chaîne polypeptidique de 326 acides aminés organisée en 5 domaines « sushi » et a une forte affinité pour les phospholipides anioniques auxquels elle se lie par son cinquième domaine. Les anticorps les plus pathogènes reconnaissent une séquence peptidique sur le domaine 1 de la β2GPI induisant une dimérisation de cette dernière et augmentant son affinité pour les PL anioniques. Si la β2GPI est le principal cofacteur des aCL, imposant sa présence pour la recherche d'aCL, elle est reconnue in vitro par des anticorps en l'absence de phospholipides anioniques. La mise en évidence des anticorps anti-β2GPI requiert l'interaction de la β2GPI avec un support chargé négativement, ce qui est le cas des microplaques irradiées utilisées dans les tests Elisa[47].

L'antigène utilisé dans ces tests Elisa ou apparentés doit être de la β2GPI humaine purifiée et non pas recombinante. L'apparente plus grande simplicité de cet Elisa par rapport à l'Elisa aCL avait fait espérer une standardisation plus aisée mais une étude récente a montré qu'il existait une grande variabilité d'accessibilité de la séquence peptique du domaine 1 reconnue par les anticorps pathogènes parmi les kits commerciaux. La spécificité du test Elisa a β2GPI pour le diagnostic de SAPL est meilleure que l'Elisa aCL, car il ne détecte pas les aPL présents dans les infections (« vrais » aCL). Cette meilleure spécificité s'accompagne d'une sensibilité plus faible[48].

Les tests Elisa détectent les aCL d'isotype IgG (quantifiés en unité GPL, isotype G PhosphoLipid) et IgM (quantifiés en unités MPL, isotype M PhosphoLipid) en fonction du standard proposé par Harris t al. Selon les recommandations de la conférence de consensus de Sydney, un test ne peut être retenu pour les critères de classification du SAPL que si son titre est moyen ou élevé (> 40UGPL ou UMPL, ou > 99e percentile).

iv. Anticorps anti-cardiolipine et anti- β 2GPI d'isotype IgA

La présence d'aCL d'isotype IgA permet de définir un sousgroupe de patients ayant un SAPL avec une thrombocytopénie, des ulcères cutanés ou des lésions de vascularite. L'intérêt de ces anticorps est néanmoins faible en comparaison aux aCL d'isotype IgG ou IgM. En effet, les aCL d'isotype IgA sont rarement présents de façon isolée. Les aCL d'isotype IgA ne peuvent donc être utilisés à des fins diagnostiques. Concernant les anti- β 2GPI d'isotype IgA, les données de la littérature ne permettent pas de déterminer si la présence d'IgA anti- β 2GPI de façon isolée (en l'absence d'anti- β 2GPI d'isotype IgG et IgM) est un facteur de risque indépendant d'événements thrombotiques dans le SAPL. En l'état actuel des connaissances, la recherche d'IgA anti- β 2GPI n'est donc pas recommandée.

v. Autres autoanticorps

a/ Les anticorps anti-phosphatidyléthanolamine

Les anticorps anti-phosphatidyléthanolamine nécessitent, comme les aCL, la présence de cofacteurs plasmatiques dont le kininogène de haut poids moléculaire pour interagir avec les phospholipides dans les réactions des tests Elisa. Les tests Elisa de dosage des anti-phosphatidyléthanolamines ne sont pas

standardisés et les résultats peuvent différer d'un laboratoire à l'autre selon les conditions techniques et les réactifs utilisés. La présence de ces anticorps est le plus souvent associée à celle des anticorps antiphospholipides plus usuels. La recherche de ces anticorps peut néanmoins être intéressante dans des contextes cliniques évocateurs de SAPL en l'absence d'aCL de LA et d'anti-β2GPI.

b/ Les anticorps anti-prothrombine

Les anticorps anti-prothrombine comprennent des anticorps reconnaissant la prothrombine seule (aPT-A) ou reconnaissant un complexe phosphatidylsérine-prothrombine (aPS/PT). Si la présence d'aPT-A seule n'est pas spécifique du SAPL, ce qui en limite l'indication dans le diagnostic et le suivi, il semble que la présence d'aPS/PT soit corrélée à celle d'un LA. Néanmoins, la corrélation entre la présence d'aPS/PT et les manifestations cliniques de SAPL n'a pas encore été démontrée. Par ailleurs, le dosage par Elisa n'a pas encore fait l'objet de standardisation[47].

2.3.2. Recommandations

Depuis la mise au point des tests Elisa aCL au début des années 1980 pour améliorer la sensibilité et la spécificité de la simple dissociation VDRL+/TPHA- pour détecter la présence d'aCL, de très nombreux travaux collaboratifs ont été conduits pour tenter d'améliorer la standardisation de ces tests Elisa. Les experts du sous-comité antiphospholipides de la société internationale d'hémostase et thrombose ont publié des recommandations techniques pour ces tests immunologiques en 10 points :

1. sélection des patients à tester pour éviter les faux positifs ;
2. sérum ou plasma citraté ;

3. aCL β 2GPI dépendant, β 2GPI humaine (non recombinante) ;
4. idéalement : CV < 20 % (voir < 10 %) ;
5. interférences : facteur rhumatoïde pour IgM, hypergammaglobulinémie [11] ;
6. en duplicate pour méthodes manuelles ;
7. standards et calibration ;
8. expression des résultats ;
9. valeurs seuils : 99e percentile calculé en testant 120 plasmas témoins ;
10. résultats et conclusion : interprétation tenant compte des résultats des 3 tests (LA, aCL, a2GPI), nécessité du contrôle à au moins 12 semaines d'intervalle.

2.3.3. Critères diagnostiques du SAPL

Le SAPL est caractérisé par son hétérogénéité et ses critères diagnostiques évolutifs, aussi bien sur le plan clinique que biologique, ce qui peut parfois compliquer la démarche diagnostique. Il peut être primaire quand l'association des aPL à la thrombose et/ou complications obstétricales est isolée, ou secondaire quand il est associé au lupus érythémateux systémique.

- **(Sapporo 1999)**

Critères cliniques

1) Thrombose(s) artérielle(s) et/ou veineuse(s) et/ou microvasculaire(s)

Un ou plusieurs épisodes de thrombose dans n'importe quel tissu ou organe. La thrombose doit être confirmée par Doppler ou par des données

histopathologiques. En cas de preuve anatomopathologique, il ne doit pas y avoir de signes de vascularite.

2) Événements obstétricaux

a) au moins une mort fœtale (10 semaines de gestation au moins) sans cause par ailleurs;

b) ou une naissance prématurée (avant 34 semaines de gestation) d'un enfant morphologiquement normal et liée à une pré-éclampsie ou une insuffisance placentaire ;

c) ou au moins 3 avortements précoces (avant 10 semaines de gestation) sans cause par ailleurs

Critères biologiques

1) Anticorps anticardiolipines IgG ou IgM à titre moyen ou élevé, par un test Elisa standardisé dépendant de la $\beta 2\text{GP1}$

2) Anticoagulant circulant lupique dépisté selon les recommandations de l'*International Society on Thrombosis and Hemostasis*.

Les anticorps anticardiolipines et l'anticoagulant circulant lupique doivent être trouvés à 2 reprises à au moins 6 semaines d'intervalle.

Le SAPL est "défini" s'il existe au moins un critère clinique et un critère biologique[45, 49].

• Critères de diagnostic Sidney :

Les critères diagnostiques du SAPL dits « de Sapporo » élaborés lors du 8^e symposium international sur les anticorps antiphospholipides de 1998 (ISAPA) ont été remplacés par ceux de Sidney (11^e ISAPA) publiés en 2006

Critères cliniques

Thromboses vasculaires : Au moins un épisode clinique de thrombose artérielle et/ou veineuse.

Complications obstétricales : Au moins une mort fœtale inexpliquée au-delà de la 10e semaine d'aménorrhée Au moins une naissance prématurée avant la 34e semaine d'aménorrhée (due à une éclampsie, une pré-éclampsie sévère ou une insuffisance placentaire) Au moins 3 fausses couches spontanées consécutives avant la 10e semaine d'aménorrhée.

Critères biologiques (présence sur deux prélèvements à au moins 12 semaines d'intervalle)

-LA : Allongement des tests de coagulation plasmatique, selon les recommandations de l'International Society of Thrombosis and Haemostasis (ISTH).

-aCL : Présence (sérum ou plasma) d'anticorps aCL isotype G et/ou M à des taux moyens à élevés (taux > 40 GPL ou > 40 MPL ou > 99e percentile), détecté par un test Elisa.

-Anti-β2GPI Présence (sérum ou plasma) d'anticorps anti-β2GPI isotype G et/ou M (taux > 99^e percentile), détecté par un test Elisa[48].

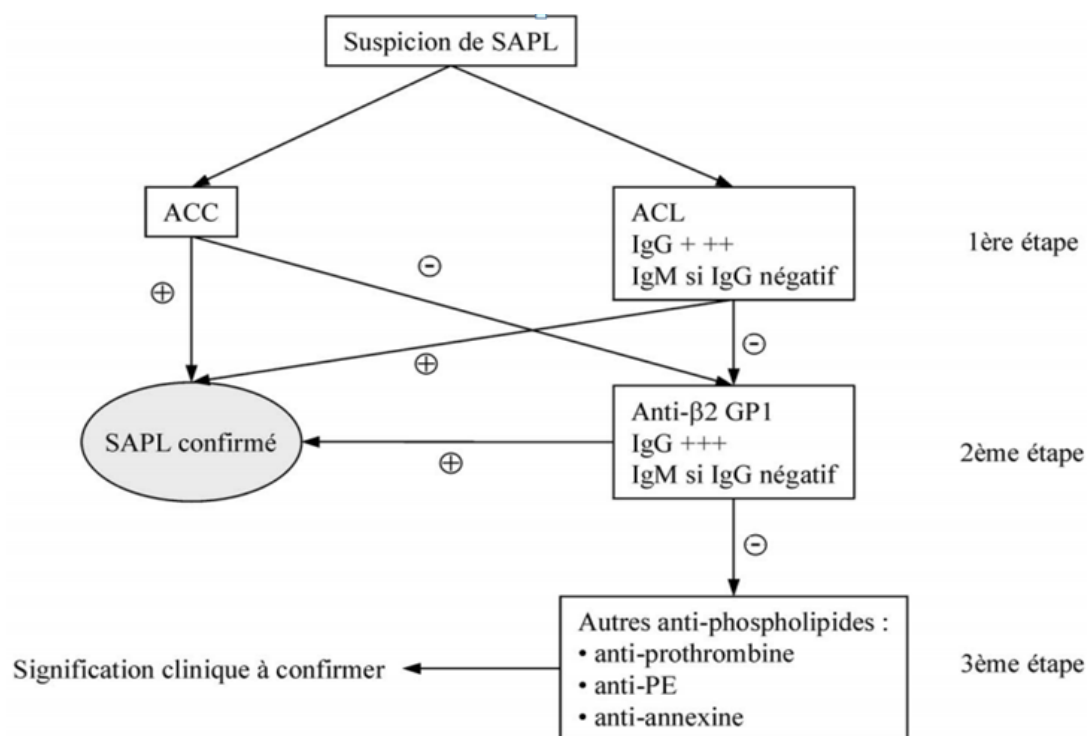


Figure 26 : stratégie de recherche des anticorps antiphospholipides en cas de suspicion clinique[50].

2.4. Anticorps anti-mitochondries :

Leur première description par Gajdusek par réaction de fixation du complément date de 1957, mais c'est en 1965 que walker et al. Ont décrit une fluorescence cytoplasmique particulière des tubules rénaux, non spécifique d'organe, donnée par les sérums de patients de cirrhose biliaire primitive. Deux ans plus tard, berg et al. Démontraient que ces auto-anticorps réagissaient avec le feuillet interne des mitochondries.

Neuf types d'anticorps anti-mitochondries ont ensuite été mis en évidence (M1 à M9), principalement dans la cirrhose biliaire primitive, mais également

dans de nombreuses pathologies très diverses comme la syphilis, certaines myocardites, le syndrome des anti-phospholipides.

En 1989, Berg et al ont proposé trois critères pour définir les anticorps anti-mitochondries :

- a) Le sérum du patient doit réagir avec des fractions submitochondriales ;
- b) Le sérum du patient doit réagir avec des fractions purifiées de la membrane mitochondriale externe ou interne, la pureté des fractions étant définie par des marqueurs enzymatiques ;
- c) L'activité anticorps de tous les sérums peut être absorbée avec des mitochondries purifiées.

A ce jour, il existe 10 types d'anticorps anti-mitochondries. Certains sont contestés et leur détection abandonnée.

Auto-anticorps	1 ^{ère} description	Auto-antigène	Maladies associées
Anti-M1	D.J.M. Wright, 1970	Cardiolipide	Syphilis
Anti-M2	J.G.Walker, 1965	Pyruvate déshydrogénase	Cirrhose biliaire primitive
Anti-M3*	P.J.Grob,	?	Pseudo-lupus (venocuran®)
Anti-M4**	P.A.Berg,	Sulfito-oxydase ?	Cirrhose biliaire primitive sévère ?
Anti-M5	M.T.Labro, 1978	?	Syndrome des anti-phospholipides
Anti-M6	J.C. Homberg, 1982	Monoaminoxidase B	Hépatite à l'iproniazide
Anti-M7	R. Klein, 1984	Flavoprotéines	Cardiomyopathies
Anti-M8**	P. Weber, 1986	?	Cirrhose biliaire primitive sévère ?
Anti-M9**	R. Klein, 1988	Glycogène phosphorylase ?	Cirrhose biliaire primitive précoce ?
Anti-M10	J.C. Homberg, 1999	?	Cirrhose biliaire primitive

* : anti-M3 : cet AAC n'est plus recherché

** : anti-M4 , 8 , 9 : AAC discutés dans leur existence et leur intérêt. Leur détection a été abandonnée

Tableau 10 : types d'anticorps anti-mitochondries et maladies associées[51].

Les AMA de type M2 sont recherchés en pratique courante. Ils sont retrouvés dans la CBP, et sont parfois associés aux anti-M4 et anti-M8 et anti-M9. Les antiM10 apparaissent précocement dans la CBP (incidence 2,2 % dans la CBP), mais sont souvent masqués par les anti-M2. L'antigène M2 est un système antigénique situé dans la membrane mitochondriale interne, correspondant à trois complexes enzymatiques impliqués dans le métabolisme des acides cétoniques à chaînes ramifiées :

- la pyruvate déshydrogénase (PDH) de 78 kDa, principale cible antigénique ;
- la 2-oxo glutarate déshydrogénase (OGDH) de 48 kDa ;
- la *branched chain 2-oxo acid dehydrogenase* (BCOADH) de 52 kDa.

Ces complexes sont constitués d'une répétition de sous-unités E2 majoritairement (dihydrolipoamide acétyltransférase), et de sous-unités E1 α , E1 β et E3.

Les anticorps anti-mitochondries de type 5 (M5) sont associés au syndrome des anti-phospholipides. Leur cible n'est pas précisément identifiée. La détection d'anticorps anti-M5 s'inscrit en troisième intention quand le contexte clinique évoque un SAPL sans marqueur biologique. Ces anticorps sont rares, leur grande spécificité pour le SAPL justifie leur recherche. En pratique courante peu de laboratoires effectuent l'identification de cette spécificité. Les anticorps anti-M5 sont le plus souvent découverts fortuitement lors de la recherche d'autres autoanticorps en IFI sur triple substrat.

2.4.1. Techniques de recherche

L'IFI sur coupes congelées de foie/rein/estomac de rat est la technique de référence pour la recherche des anticorps anti-mitochondrie. Le dépistage est effectué avec du sérum dilué au 1/40.

❖ Principe :

Il consiste à déposer le sérum sur une coupe d'organes (triple substrat), et à rechercher la fixation des auto-anticorps sur les structures antigéniques correspondantes par application d'une antiglobuline humaine fluorescente les différents auto-anticorps sont identifiés d'après l'aspect et la localisation de la fluorescence au niveau des trois organes. L'association de plusieurs tissus est indispensable pour pouvoir identifier correctement les anticorps[52].

❖ Aspect de fluorescence :

Pour les anti-M2, la fluorescence granulaire des mitochondries est objectivée dans le cytoplasme des cellules pariétales gastriques, des cellules de Küpffer, des hépatocytes (fluorescence faible habituellement) et des cellules tubulaires rénales (tubules distaux > tubules proximaux). Une fluorescence supérieure à 1/100 a une valeur diagnostique pour la CBP ; une confirmation du type M2 doit alors être effectuée (immunodot, ELISA, immunotransfert, western blot).

Les anti-M1 ont un aspect très voisin des anti-M2, mais la fluorescence des cellules pariétales est moins nette. Les anti-M10 donnent sur triple substrat de rat un marquage exclusif des tubules distaux du rein et des canaux biliaires du foie. L'estomac est négatif[53].

Les anti-M5 sont caractérisés par une fluorescence des tubules proximaux P1 P2>P3. Les tubules distaux sont négatifs. Au niveau de l'estomac, les cellules du collet sont positives [38].

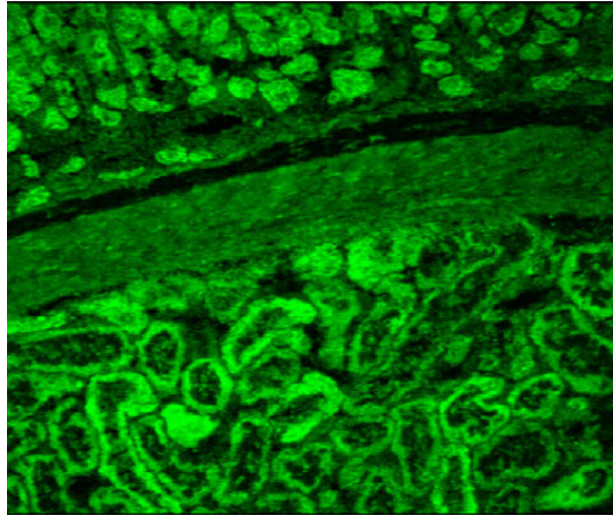


Figure 27 : Aspects des Ac anti-M2 par IFI sur substrat estomac/foie/rein de rat : marquage des cellules pariétales gastriques, et des tubules distaux > tubules proximaux[54].

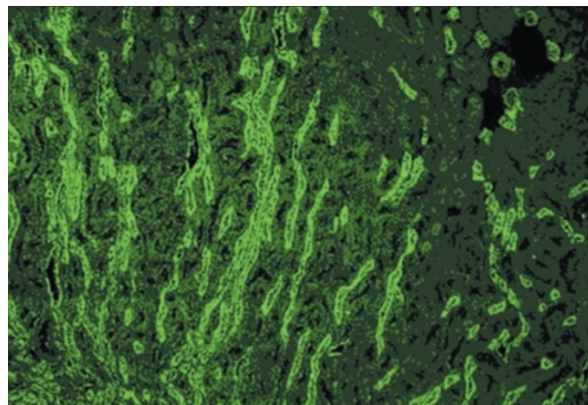


Figure 28 : Ac anti-mitochondries de type 10 , IFI sur triple substrat : marquage des tubules distaux[52].

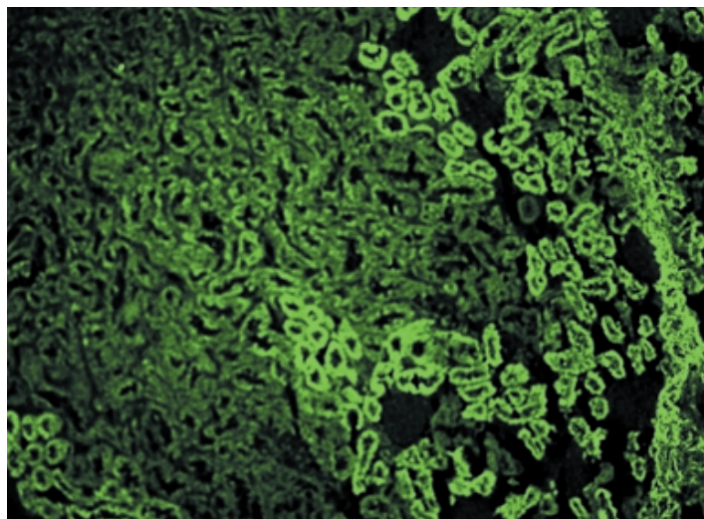


Figure 29 : AC antiM5 , aspect en IFI sur rein de rat : marquage des tubules proximaux et distaux d'intensité [52].

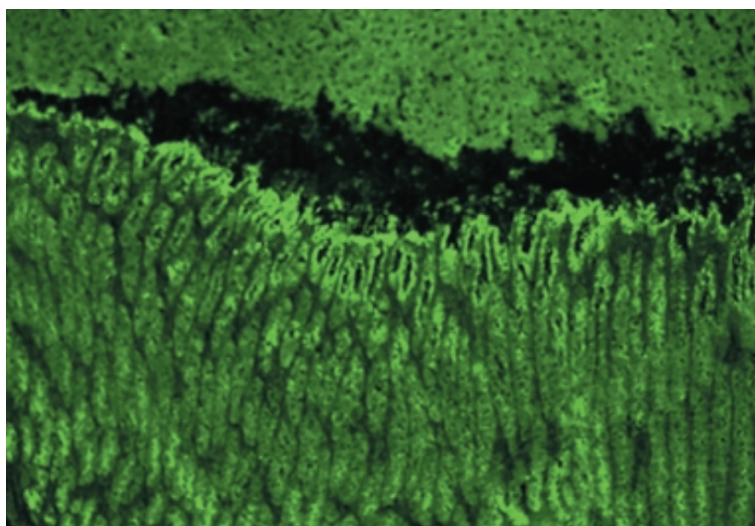


Figure 30 : AC an-M5, aspect IFI sur estomac de rat : marquage des cellules du collet[52].

2.4.2. Techniques d'identification de seconde intention :

A. IFI sur cellules Hep-2 :

Parmi les différents types d'anticorps antimitochondries, seuls les anti-M2 marquent les cellules HEp-2 : la fluorescence est cytoplasmique, de type filamentogranulaire à renforcement périnucléaire, s'effilochant vers la périphérie (figure 31). Il peut exister des images typiques d'anti-M2 sur HEp-2, mais négatives sur triple substrat, ce qui oblige à utiliser la technique de référence IFI.

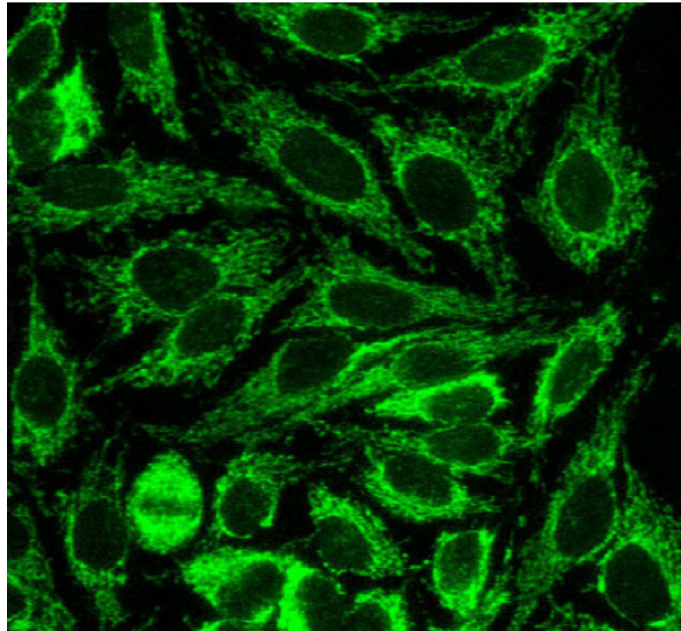


Figure 31 : Aspects des Ac anti-M2 ou AMA sur cellules Hep-2: marquage granulaire filamenteux cytoplasmique.[54].

B. Immunotransfert :

L'immunotransfert est une technique lourde nécessitant la purification de fractions cellulaires et la séparation des protéines par électrophorèse sur gel de polyacrylamide en présence de SDS. Elle implique que les auto-anticorps reconnaissent les épitopes non conformationnels. Les antigènes utilisés sont des extraits mitochondriaux de cœur de bœuf ou de foie de rat. Des antigènes d'autres origines, notamment humaine, peuvent également être utilisés. Cette technique est la seule qui permette l'identification précise de l'ensemble des protéines mitochondriales reconnues par les anticorps anti-M2.

En effet, 1 à 5 bandes peuvent être reconnus par les sérums correspondant aux différents antigènes reconnus par les anticorps anti-M2 selon leur masse moléculaires (sous-unités E2, E1a, E1b de la pyruvate déshydrogénases(PDH), oxoglutarate déshydrogénase (OGDC), déshydrogénase à chaîne branchée (BCOADC). L'interprétation peut être difficile. Plusieurs contrôles positifs doivent être inclus à chaque série.

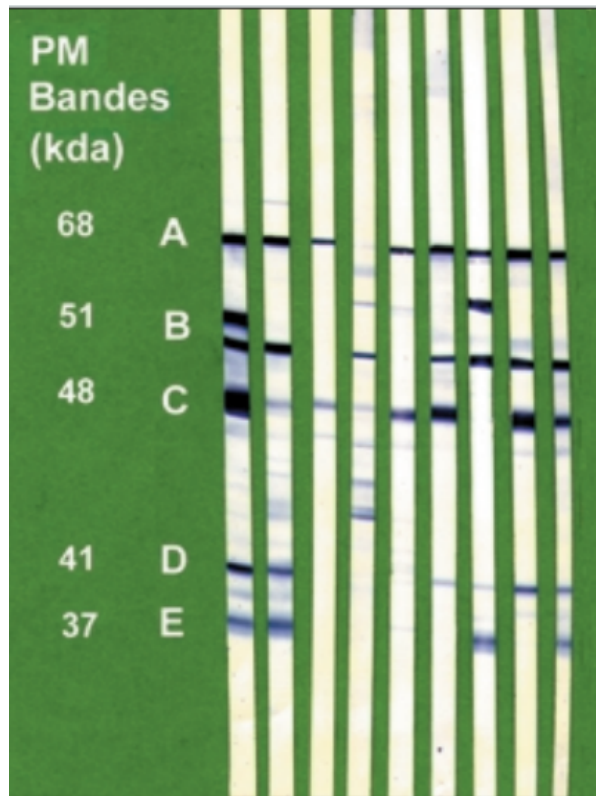


Figure 32 : détection des anticorps anti-mitochondries de types 2 par immunotrasfert.

Les sérums reconnaissent 1 à 5 bandes correspondant aux différents antigènes des complexes PHD, OGDC et BCOADC. Les 9 bandelettes présentées sont incubées avec des sérums contenant des anticorps anti-M2[52].

2.5. Le facteur rhumatoïde (FR) :

Les facteurs rhumatoïdes (FR) constituent une famille hétérogène d'auto-Ac qui ont en commun de reconnaître la partie Fc des IgG, le plus souvent d'isotype IgM. Ils apparaissent au cours de processus inflammatoires chroniques quelle qu'en soit l'origine. On les rencontre au cours de la polyarthrite rhumatoïde (PR), mais aussi dans d'autres connectivites (syndrome de GougerotSjögren, lupus érythémateux systémique) ou dans les vascularites à

anticorps anti-cytoplasme des neutrophiles. Enfin, ils apparaissent aussi au cours de divers processus inflammatoires non associés aux maladies auto-immunes (cancers ou infections) et même chez des sujets sains, ils manquent donc particulièrement de spécificité pour le diagnostic de la polyarthrite rhumatoïde.

On décrit :

- des FR dirigés contre des IgG animales (lapin, particulièrement, classiquement révélés par le test de Waaler-Rose, groupe 1);
- des FR anti-IgG humaines (classiquement associés au test «latex», groupe 2).

Les FR anti-IgG humaines sont d'apparition précoce, constituant un test sensible, mais peu spécifique. La présence de FR anti-IgG animales traduit une grande polyclonalité de la réponse immunitaire avec une diversification de la spécificité des anticorps. Elle est plus tardive et restreinte aux maladies les plus inflammatoires[55].

Recherche

Les IgM pentamériques agglutinantes sont dépistées par un test d'agglutination au latex qui utilise des particules recouvertes d'IgG humaines. Un titre agglutinant du 1/21 traduit la présence de FR. L'utilisation de plaques Elisa recouvertes d'IgG de lapin met en évidence IgM pentamériques et IgM monomériques, des IgG et des IgA dotées d'une activité FR[56].

2.5.1. Méthodes d'agglutination passive

Ce sont les premières techniques décrites et toujours largement employées en routine. Elles sont basées sur l'emploi d'IgG liées à un support visible, érythrocytes ou latex. Lorsque le support est constitué d'hématies, les IgG sont

des anticorps spécifiques anti-globules rouges. Lorsque le support est fait de particules de latex, les IgG sont liées de façon non spécifique. Le FR présent dans le sérum du malade se fixe spécifiquement à plusieurs IgG elles-mêmes liées au support, provoquant une réaction d'agglutination. Étant donné le principe même de ce type de méthode, seuls les FR formés d'IgM (classe d'anticorps ayant les plus fortes propriétés d'agglutination) sont détectés.

α - Réaction de Waaler-Rose

Principe :

L'antigène est constitué d'hématies de mouton recouvertes d'IgG de lapin anti-hématies de mouton. La présence d'anticorps naturels hétérospécifiques anti-hématies de mouton dans beaucoup de sérums humains nécessite leur absorption préalable avec des hématies de mouton. Les trousses commerciales comportent une suspension d'hématies de mouton sensibilisées par des IgG de lapin spécifiques. Les contrôles doivent être des hématies de mouton seules, des sérums témoins positif et négatif pour les FR.

Il faut prévoir un témoin-sérum pour s'assurer que celui-ci n'agglutine pas spontanément les hématies de mouton non sensibilisées. Des témoins FR positifs et négatifs, étalonnés en UI/mL selon le standard de l'OMS, doivent être inclus à chaque dosage. Ce type de technique peut être réalisé en tube ou, mieux, en microplaque à fond conique.

Résultats et Interprétation

L'hémagglutination est facilement visible à l'œil nu. Le titre du sérum en FR correspond à la plus forte dilution où l'on observe encore une hémagglutination.

Actuellement, le standard OMS de FR donne une valeur seuil de 15 UI/mL, au-dessus de laquelle un échantillon doit être considéré comme positif. Toutefois, comme pour tous les dosages d'autoanticorps, il est souhaitable que chaque laboratoire établisse ses propres normes en déterminant une valeur seuil à partir de multiples échantillons de sérums provenant de sujets en bonne santé.

b- Réactions de Waaler-Rose modifiées

À cause des difficultés liées à l'emploi des globules rouges de mouton, des variantes de la réaction classique de Waaler-Rose ont été proposées.

Principe

Le principe global reste le même. Il s'agit toujours de disposer d'hématies recouvertes d'IgG spécifiques. Pour ce faire, plusieurs solutions existent : soit des hématies humaines de groupe O rhésus positif recouvertes par des IgG humaines anti-C/D, soit des hématies humaines de groupe O rhésus négatif recouvertes d'IgG de lapin anti-hématies humaines, soit des globules rouges de mouton formolés et tannés, recouverts d'IgG de lapin.

c-Test au latex

Principe :

Le test au latex de Singer utilise des billes recouvertes d'IgG humaines agrégées. Les sérums à étudier doivent être dilués classiquement. La réaction quantitative est effectuée en tubes. L'agglutination des particules de latex est facilement visible à l'œil nu. Le titre du sérum en FR correspond à la plus forte dilution où l'on observe encore une agglutination.

2.5.2. Méthodes de précipitation : turbidimétrie – néphélémétrie

❖ Principe :

L'antigène est constitué soit de particules de polystyrène (latex) recouvertes d'IgG humaines et de gammaglobulines de mouton anti-gammaglobulines humaines, soit d'IgG humaines agrégées. Si le sérum à tester contient du FR, il se forme des complexes entre le FR et les IgG fixées au latex ou agrégées. Le faisceau de lumière qui vient frapper ces complexes est dispersé. L'intensité relative de lumière dispersée est proportionnelle à la concentration en FR dans le sérum après calibration avec un standard.

Les trousse commerciales comprennent généralement les particules de latex recouvertes d'IgG, et un standard constitué d'un pool de sérums fortement positifs, étalonné sur la préparation de référence de l'OMS. La concentration de ce standard est exprimé en UI/mL. En outre, les trousse contiennent des contrôles internes dont la concentration de FR en UI/mL est indiquée par le fabricant. Le matériel de mesure est soit un néphélémètre, soit un turbidimètre.

❖ Mode opératoire :

La courbe d'étalonnage est effectuée par dilutions automatiques du standard de FR. Habituellement, cette courbe peut être utilisée pendant une semaine à condition que les résultats trouvés pour les contrôles internes soient corrects. Les échantillons de sérums pathologiques à tester sont dilués automatiquement, en général, au 1:20 dans un diluant approprié au matériel de mesure. Si un échantillon montre une concentration très forte de FR, on peut être amené à faire une dilution complémentaire du sérum (au 1:100 par exemple).

❖ **Lecture :**

Les appareils de mesure indiquent habituellement le résultat de chaque échantillon, exprimé en UI/mL.

❖ **Interprétation des résultats :**

Actuellement, le standard OMS de FR donne une valeur seuil de 15 UI/mL, au-dessus de laquelle un échantillon doit être considéré comme positif. Toutefois, comme pour tous les dosages d'autoanticorps, il est souhaitable que chaque laboratoire établisse ses propres normes en déterminant une valeur seuil à partir de multiples échantillons de sérums provenant de sujets en bonne santé.

2.5.3. Méthodes immunoenzymatiques

❖ **Principe :**

Des méthodes immunoenzymatiques (ELISA) sont proposées pour doser les FR de classe IgM, IgA et même IgG. Toutefois, des problèmes de standardisation existent souvent à cause de la nature même des FR. Idéalement, « l'antigène » fixé au fond de la plaque devrait être seulement des fragments Fc d'IgG, ce qui est rarement le cas. De plus, la détection de FR de classe IgA ou IgG peut être biaisée par la présence simultanée de FR de classe IgM dans un sérum. En effet, ce dernier peut se lier au fragment Fc de l'anticorps anti-IgG ou IgA. Si bien que l'anticorps destiné à révéler la classe des FR doit obligatoirement être un fragment F(ab')₂, donc totalement dépourvu de portion Fc. De plus, il faut dépolymériser les IgM du sérum pour diminuer leur fixation aux IgG. Lorsqu'on souhaite doser uniquement les FR de classe IgM par ELISA, on peut employer un test qui combine les deux spécificités principales de l'autoanticorps, c'est-à-dire les IgG humaines et de lapin (fragments Fc de ces IgG fixés sur des microplaques). De même, l'emploi d'un anticorps monoclonal

ne révélant que les IgM humaines peut augmenter la spécificité de la réaction. Même en utilisant des fragments Fc pour sensibiliser les plaques et des fragments F(ab')₂ pour révéler les FR de classe IgG ou IgA, l'interprétation de ces tests reste pour le moins délicate. Une alternative (non utilisable en routine) repose sur l'isolement des FR par chromatographie d'affinité, suivie de leur caractérisation immunochimique (4).

❖ **Matériel et réactifs :**

Les troupes commerciales répondant aux impératifs techniques indiqués ci-dessus doivent normalement comporter des microplaques dont les puits sont recouverts de fragments Fc d'IgG humaine et/ou animale. L'anticorps permettant de révéler la fixation de FR sur les IgG doit être un fragment F(ab')₂ couplé à une enzyme (phosphatase alcaline, peroxydase, etc.). L'étape de chromogénèse est réalisée en ajoutant le substrat approprié qui donne une coloration proportionnelle à la quantité de FR présent dans le sérum. La réaction enzymatique est bloquée par NaOH 1N.

❖ **Lecture**

La lecture des densités optiques se fait à 405 nm avec un spectrophotomètre [57].

2.6. Les auto-anticorps anti-protéines et anti-peptides citrullinés :

La citrulline est un acide amine qui résulte de la modification post-traductionnelle de l'arginine constituant de certaines protéines. Sous l'influence d'une enzyme appelé PAD (peptidyl arginine déiminase), un radical NH₂⁺ est clivé en présence de H₂O, transformant l'arginine en citrulline, le radical NH₂⁺ étant remplacé par de l'oxygène. Il existe plusieurs isoformes de PAD selon l'origine tissulaire. Les protéines citrullinées seront clivées en peptides après

phagocytose par les monocytes/macrophages et seront préférentiellement présentées au système de reconnaissance immunitaire lymphoïde T, portées par les molécules HLA.

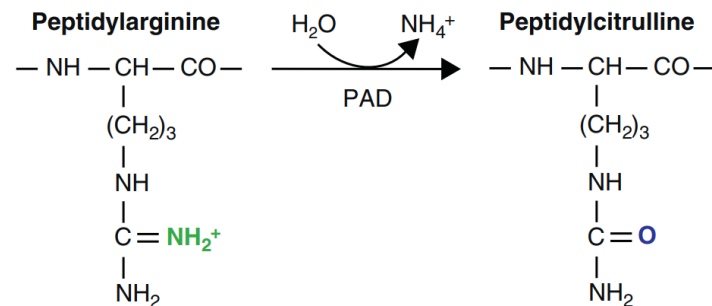


Figure 33 : Citrullination par le peptidyl arginine déiminase[58]

Le premier de ces anticorps est le "facteur anti-péri nucléaire" (APF) découvert en 1964 par Nienhuis et coll. Cet anticorps marque, en immunofluorescence indirecte, les grains de kératohyaline du cytoplasme des cellules épithéliales de la muqueuse buccale humaine. Le second anticorps est décrit en 1979 par young et coll. Il se fixe sur la couche cornée de l'épithélium malpighien de l'œsophage de rat, et en raison de cette localisation, a été appelé, à tort, anticorps anti-kératine (AKA).

Le APF et les AKA dépendent en fait d'un même antigène, la filagrine (et son précurseur la profilagrine), une protéine impliquée dans l'agrégation des filaments de cytokératine (Filament Aggregating Protein).

En 1994, Desprès et col ont décrit un autoanticorps présent dans le sérum de 50 % des patients atteints de PR. Cet anticorps réagit avec un antigène (l'antigène Sa) que l'on peut extraire du placenta ou de la rate humaine. L'antigène Sa a pu être récemment identifié avec la vimentine citrullinée

.Lavimentine est un constituant majeur des filaments intermédiaires du cytosquelette des cellules mésangiales (fibroblastes, chondrocytes, ostéocytes) et des leucocytes. Contrairement à la filagrine, la vimentine est largement présente dans la synoviale. Une autre protéine citrullinée, particulièrement intéressante puisqu'elle est aussi présente dans la synoviale rhumatoïde, est la fibrine. Les chaînes α et β de la fibrine sont porteuses d'épitopes citrullinés analogues à ceux portés par la filagrine [59].

Seules les PR font des anti-citrulline, mais on ignore encore la raison exacte puisque l'activité PAD est retrouvée dans tous les liquides inflammatoires et les synoviales de rhumatismes inflammatoires. La production d'anticorps correspondants reste limitée aux PR ou aux futures PR. C'est cette propriété qui est exploitée pour faire le diagnostic sérologique de PR débutante. On utilise pour cela, non tant des protéines naturellement citrullinées telle la vimentine, que des peptides de synthèse cyclisés riches en motifs antigéniques citrullinés (CCP)[60].

Différents tests de détection des APPC ont été développés :

- **les auto-Ac anti-stratum corneum ou anti-filagrine humaine épidermique** peuvent être détectés par immunofluorescence indirecte sur coupe d'œsophage de rat, en immunotransfert ou en ELISA avec une filagrine humaine purifiée ou recombinante citrullinée ou de rat ;

- **les auto-Ac anti-fibrinogène humain désiminé** sont identifiables en ELISA ;

- les auto-Ac anti-CCP utilisant des peptides synthétiques dérivés de la filagrine humaine citrullinée et cyclisée sont recherchés en ELISA. C'est ce dernier test qui est actuellement commercialisé par plusieurs firmes utilisant une même source antigénique de CCP.

2.6.1. Immunofluorescence indirecte anti-stratum corneum (« anti-kératine ») et anti-périnucléaires.

L'immunofluorescence indirecte permet de détecter les auto-Ac anti-périnucléaires sur frottis de cellules de muqueuse buccale et les auto-Ac anti-stratum corneum/anti-filagrine sur coupes d'œsophage de rat.

A. Recherche des anticorps antikératine (AKA)

Les AKA sont recherchés sur coupe d'œsophage de rat. La coupe est réalisée au niveau du 1/3 moyen de l'œsophage. La dilution de dépistage du sérum est 1/10. La fixation des anticorps est révélée par une anti-IgG de préférence anti-F (ab')₂ pour éviter l'interférence des FR. Les anticorps reconnaissent en fait le *stratum corneum* et la positivité est caractérisée par une fluorescence lamellaire restreinte de ce *stratum corneum* donnant une image évoquant la reconnaissance des molécules de kératine, d'où leur premier nom d'anti-kératine. Le résultat est exprimé par l'inverse de la dernière dilution donnant encore une positivité. L'inconvénient de cette technique est dû à la présence d'autres autoanticorps, en particulier les anticorps anticytokératines épidermiques humains qui gênent la lecture. Les AKA sont des marqueurs ayant une excellente spécificité, supérieure à 90 %, mais leur sensibilité n'est que de 40 à 60 % dans les PR installées et ne dépasse guère 30 % dans les PR récentes.

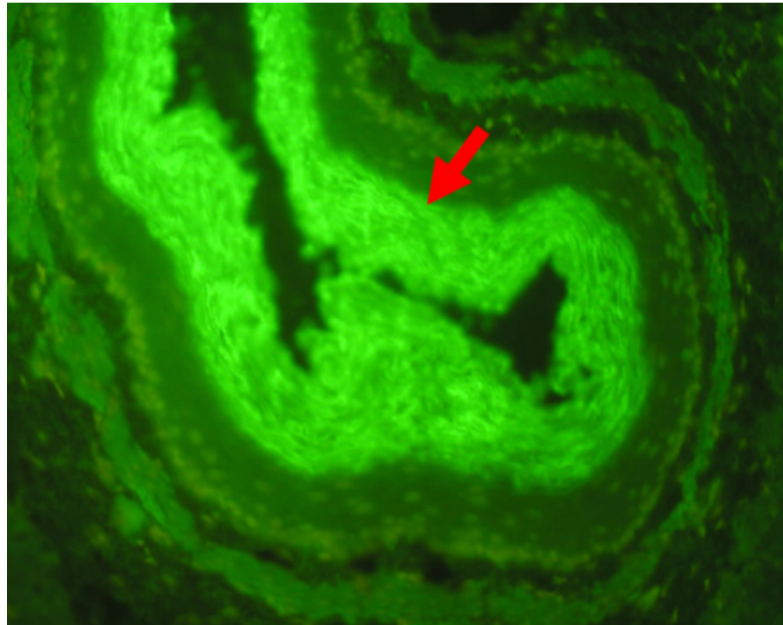
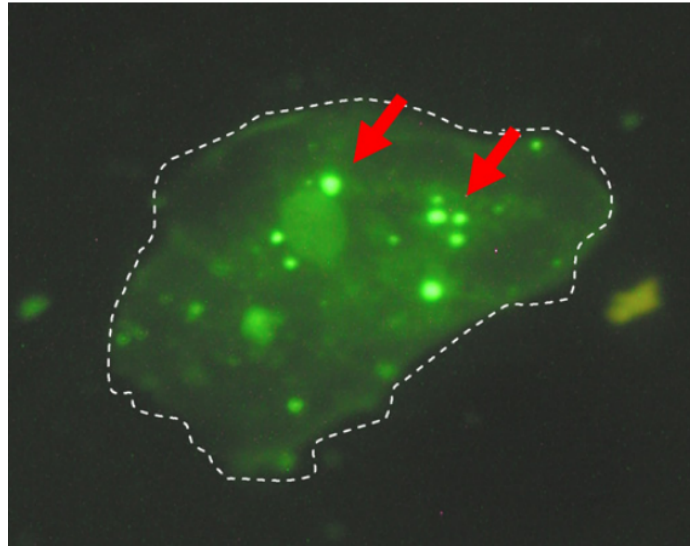


Figure 34 : Anticorps dirigés contre le stratum corneum dit « antikératine ». La fluorescence (flèche) est localisée au niveau de la couche cornée de l'épithélium d'œsophage de rat[56].

B. Recherche des anticorps anti-périnucléaires

Des frottis sont réalisés à partir des cellules de la muqueuse buccale prélevées par grattage au niveau de la joue et mises en suspension dans du PBS pH 7.2. Il est conseillé de travailler sur cellules fraîches et pour améliorer la spécificité, d'utiliser le sérum dilué au 1/80 ou 1/100 et une antiglobuline fluorescente IgG anti-F(ab')₂. La positivité correspond à une fluorescence des granules de kératohyaline entourant le noyau des cellules et la recherche est considérée comme positive si 10 % des cellules présentent des granules fluorescents. La spécificité des APN varie de 75 à 90 % selon les auteurs et leur sensibilité de 40 à 90 %. Leur fréquence dans les PR récentes est plus faible variant de 27 à 66 %[61].



**Figure 35 : Facteurs périnucléaires révélés par immunofluorescence indirecte (IFI).
Granules fluorescents (flèches) à la périphérie d'une cellule jugale humaine[56].**

Néanmoins, la recherche des auto-Ac antipérinucléaires n'est plus réalisée, du fait de la difficulté technique majeure d'obtenir de manière standardisée des cellules de la muqueuse buccale.

La détection des auto-Ac anti-stratum corneum/anti-filaggrine est de moins en moins utilisée au profit de la détection des APPC par ELISA qui est plus sensible, tout en étant pratiquement aussi spécifique. Cependant malgré cela, la recherche des APPC par immunofluorescence indirecte est la seule technique inscrite à la nomenclature des actes de biologie médicale[62].

2.6.2. Immunotransfert anti-filaggrine

La filaggrine est extraite d'épiderme humain. Les méthodes d'extraction font appel au Nonidet P40 (détergent non ionique et non dénaturant approprié à la solubilisation et à l'isolement des protéines membranaires) pour obtenir les isoformes neutres ou acides de la filaggrine. Les anticorps réagissent avec les

variants acide/neutre de la filaggrine de 37 à 40 kDa et parfois avec les intermédiaires de 40 à 400 kDa. Cette méthode, longue et délicate, est réservée à des laboratoires spécialisés. Elle ne permet de détecter que les anticorps dirigés contre des épitopes séquentiels alors que les techniques par immunofluorescence indirecte permettent de révéler des anticorps dirigés contre des épitopes conformationnels[61].

L'association immunofluorescence et immunotransfert permet d'augmenter la sensibilité du marqueur. Néanmoins, la technique d'immunotransfert ne peut être adaptée aisément dans les laboratoires de biologie. Cette technique a donc été également abandonnée en routine au profit de l'ELISA.

Un test a été mis au point par une technique de Dot (Innogenetics) utilisant aussi la filaggrine humaine recombinante ou des peptides dérivés de la filaggrine, mais ce test ne permet pas de donner un taux ou un titre d'auto-Ac.

2.6.3. ELISA anti-cyclic citrullinated peptide (anti-CCP)

Le premier ELISA a été mis au point en utilisant des peptides citrullinés synthétiques, apparentés à la région C terminale de la filaggrine où sont localisés le plus grand nombre de résidus arginine. Sa sensibilité est supérieure à celle de l'immunofluorescence indirecte.

Par la suite, des peptides synthétiques citrullinés mais « cycliques » ont été utilisés de manière à améliorer la conformation et la reconnaissance des anticorps grâce à une exposition optimale des peptides en fond de plaque. Ce nouvel ELISA a été commercialisé et nommé « CCP1 » pour « cyclic citrullinated peptide » ou test de 1^{re} génération (Immunoscan Euro-Diagnostica).

Un test de seconde génération nommé CCP2 a été ensuite développé. Il utiliserait plusieurs peptides citrullinés synthétiques « cycliques ». Actuellement il existe différents kits commerciaux utilisant ce procédé mais les résultats sont sensiblement identiques car une seule source anti-génique est utilisée. Les seules différences concernent les agents diluants. Les kits de détection « CCP2 » (Inova Diagnostics, EuroDiagnostics, Axis-Shield diagnostics) ont pratiquement la même sensibilité et la même spécificité.

Un test de troisième génération nommé « CCP3 » a été récemment mis sur le marché. La source anti-génique n'est pas connue précisément.

2.6.4. Autres méthodes utilisant des auto-anti-gènes citrullinés

D'autres sources anti-géniques ont été développées pour détecter les APPC : filagrine de rat recombinante citrullinée, fibrinogène citrulliné et vimentine citrullinée « Mutated citrullinated vimentin ». Récemment, il a aussi été décrit des auto-Ac dirigés contre du collagène humain de type 1 citrulliné. Il n'y aurait pas d'association entre les auto-Ac anti-CCP et ces Ac. La séquence peptidique reconnue est différente de l'anti-gène dérivé de la filagrine.

Enfin, un peptide viral déiminé serait spécifiquement reconnu par des auto-Ac présents chez des patients atteints de PR. L'ensemble des résultats utilisant ces différents tests doit être validé sur de plus larges séries de PR et d'autres pathologies pour évaluer sensibilité et spécificité et ainsi déterminer leur apport par rapport aux APPC[62].

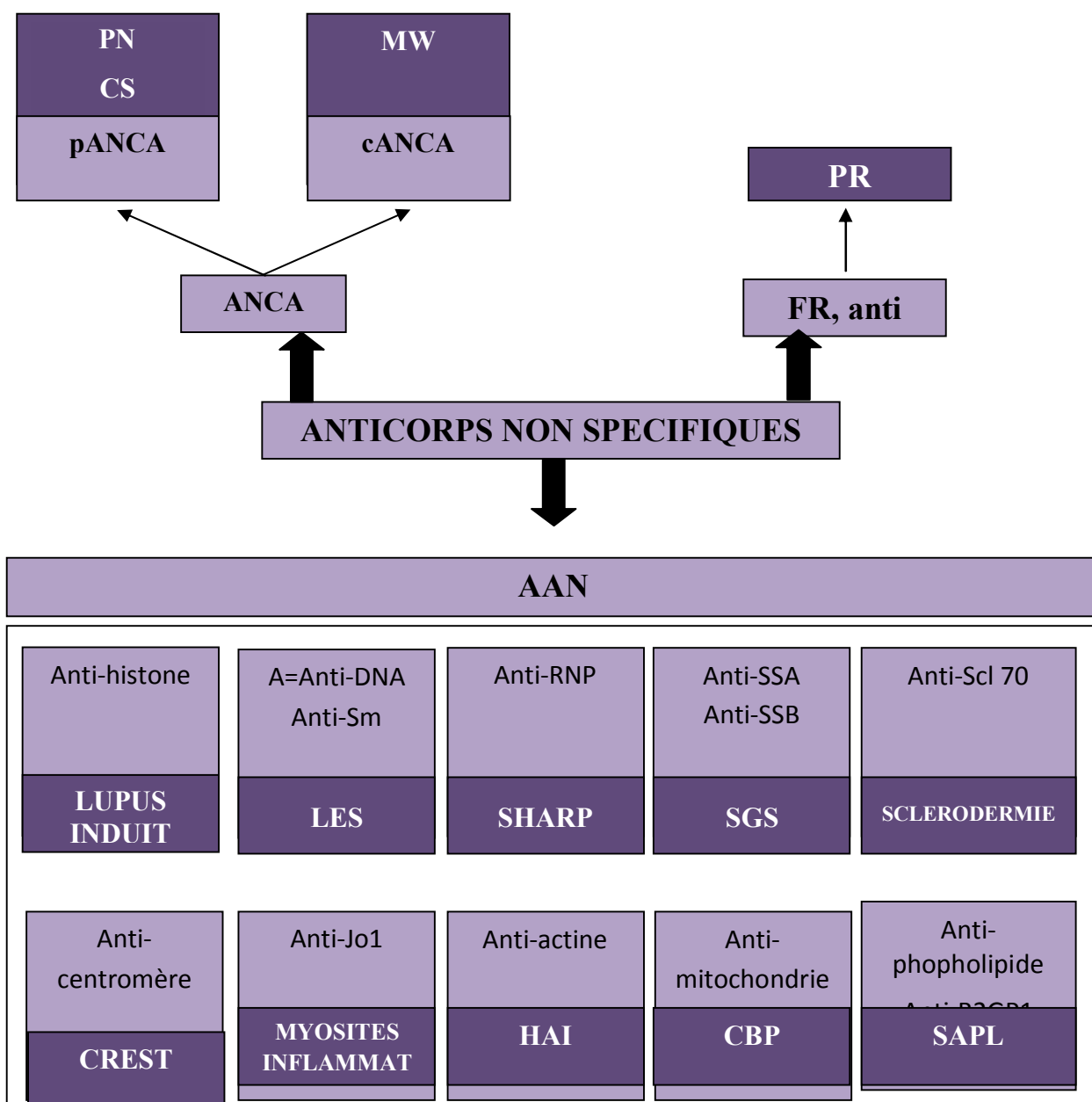


Figure 36: Anticorps non spécifique d'organe [63]

3. L'interprétation des résultats :

L'interprétation du bilan auto-immun consiste à apprécier la cohérence des résultats entre l'IFI et les techniques d'identification d'une part et le contexte clinique d'autre part.

La cohérence entre les résultats observés en IFI et par les techniques d'identification est essentielle. Toutefois, dans certains cas, le dépistage est positif mais l'identification négative ; cela peut être dû à des titres faibles d'anticorps, des cibles antigéniques différentes, une cible non encore identifiée, ou bien cela peut provenir de la technique d'identification et de la nature du réactif de révélation, inadaptées.

A contrario, le dépistage peut être non évocateur et l'identification positive : dans ce cas, il faut revoir la technique d'IFI et le niveau de positivité (il peut s'agir d'une réaction non spécifique). La confirmation par une troisième technique est recommandée.

La présence d'auto-anticorps en l'absence de MAI (surtout AAN) peut s'expliquer par une dysrégulation immunitaire, en cas d'infection aiguë ou chronique, de prise médicamenteuse, de tumeur solide ou d'hémopathie maligne, d'un terrain autoimmun (premiers signes d'une connectivite ou pathologie autre).

Il peut aussi s'agir d'un aspect de fluorescence sans association clinique spécifique, ces résultats peuvent s'observer chez des sujets sains (surtout âgés de plus de 60 ans).

L'absence d'auto-anticorps en présence d'une MAI peut être due à des techniques inappropriées (AC non détectables en IFI, images insuffisamment

typiques en IFI ou Ac plus rares), d'un déficit en immunoglobulines ou bien d'AC non constants ni spécifiques à 100 % d'une MAI. De fait, l'absence d'auto-AC n'exclut pas le diagnostic de MAI devant un tableau clinique évocateur.

La découverte d'auto-AC non prescrits doit être signalée : il peut s'agir d'une pathologie débutante ou bien correspondre à la présence d'une immunoglobuline monoclonale à activité auto-Ac. en cas de dépistage positif, des examens complémentaires seront réalisés pour identifier la cible.

Un bilan auto-immun doit être interprété, Cela sous-entend une bonne maîtrise des techniques utilisées et de leurs pièges, ainsi qu'une collaboration étroite entre les biologistes et les cliniciens. Et le résultat rendu aux cliniciens doit être dépourvu d'ambiguïté[64].



VI. Traitement

1. Corticothérapie :

1.1. Modalités de prescription :

Les corticoïdes administrés par voie générale constituent en règle la base du traitement de fond d'un large éventail de maladies auto-immunes et/ou inflammatoires systémiques. La dose utilisée varie cependant en fonction de la posologie considérée et , pour une pathologie donnée en fonction du degré de sévérité de la maladie. Seule la sclérodermie systémique, au cours de laquelle la corticothérapie est peu efficace et entraîne un risque accru de survenue d'une crise rénale, constitue une exception à cette règle.

Les bolus de méthylprednisolone (solumédrol*) : Ils sont indiqués dans des circonstance de menace du pronostic vital ou la fonction d'un organe noble (cerveau, œil, rein, poumon), soit d'emblée, soit dans les formes résistantes au traitement conventionnel. Ils sont administrés à la dose de 15mg/kg en une à deux heures en règle trois jours de suite, après avoir recherché et corrigé si nécessaire une hypokaliémie et vérifié l'absence d'anomalie électrocardiographique. L'utilisation des bolus de méthylprednisolone est cependant le plus souvent empirique et les essais thérapeutiques contrôlés démontrant leur efficacité sont rares. De plus, il n'est absolument pas démontré qu'ils puissent permettre ultérieurement d'avoir un effet d'épargne corticoïde sur la dose de prednisone prescrite ensuite per os en relais.

En dehors des situations d'urgence, les corticoïdes sont administrés per os en privilégiant le prednisone (cortancyl*) dont l'absorption digestive est meilleure que la prednisolone (solupred*). Les corticoïdes sont habituellement administrés en une seule prise le matin à 8h. Quelquefois, une fragmentation de la dose peut permettre un meilleur contrôle de la maladie.

La dose d'attaque chez l'adulte ne sera jamais supérieure à 1 mg/kg/j et dépendra de l'indication. Après une période de 15 à 30 jours à la dose d'attaque, la corticothérapie sera diminuée progressivement, de l'ordre de 10% tous les quinze jours jusqu'à 50% de la posologie initiale, puis plus progressivement pour atteindre une dose de 10mg/j lorsque la maladie est bien contrôlée. A partir de 10mg/j, la diminution se fera à raison d'un mg tous les 15jours ou tous les mois en fonction du contexte jusqu'à 5mg/j.

Les modalités d'arrêt de la corticothérapie sont variables en fonction des centres et des pathologies considérées. Dans certaines maladies, un sevrage progressif de la corticothérapie est autorisé après 1 à 4ans. Dans d'autres maladies comme dans certaines vascularites, on conservera une dose de 5mg/j de manière très prolongée. Avant d'interrompre la corticothérapie, la plupart des praticiens effectuent un test au synacthène* immédiat (**tétracosactide**) de manière à juger de l'intégrité de l'axe corticotrope avant d'arrêter ou de diminuer en dessous de 5mg/j la dose. Si le test au synacthène* est normale, la dose de cortancyl* sera progressivement diminuée de 1mg tous les 15jours à un mois jusqu'à l'arrêt total. Si le test au synacthène immédiat n'est pas normal, il faudra prescrire au patient de l'hydrocortisone à la dose de 20mg/j à l'arrêt du cortancyl*.

1.2. Effets secondaires :

Les corticoïdes ont un certain nombre d'effets secondaires. Il est impératif d'en informer le patient au moment de l'initiation du traitement et de prendre un certain nombre de précautions de manière à prévenir ou minimiser leur risque de survenue.

✓ hypercorticisme iatrogène :

-obésité facio-trunculaire : la corticothérapie prescrite à forte doses et de manière prolongée entraîne des modifications morphologiques de type syndrome de cushing, qui représentent un des écueils majeurs des traitements prolongée

-diabète : les corticoïdes peuvent aggraver un diabète préexistant ou révéler un diabète latent le plus souvent, le diabète cortico-induit est réversible à l'arrêt du traitement cependant, le retour à la normale des chiffres de glycémie peut demander plusieurs mois. Il sera important de prévenir l'apparition d'un diabète sucré par le respect d'un régime pauvre en sucre. Il est impératif de surveiller la glycémie à jeun chez les patients sous corticoïdes au long cours, et d'évoquer le diagnostic de diabète décompensé chez un malade qui maigrit au cours de premiers mois d'un traitement corticoïde et qui présente un syndrome polyuro-polydypsique.

-hyperlipidémie : la corticothérapie prolongée entraîne une hypertriglycérémie et reconnue comme un facteur d'athérogenèse.

-troubles endocriniens : survenue possible d'un hirsutisme, d'une aménorrhée, d'une altération des fonctions sexuelles.

-hypertension artérielle : une hypertension artérielle peut survenir chez certains patients, nécessitant un traitement spécifique, et la prise de la pression artérielle fait partie de la surveillance de tout patient sous corticoïdes au long cours. La survenue d'une hypertension artérielle est prévenue par la mise en place d'un régime désodé strict.

-ostéoporose cortisonique : les corticoïdes peuvent être à l'origine d'une ostéoporose cortico-induite et il est impératif de la prévenir. La perte osseuse

cortico-induite est précoce, trabéculaire, dose dépendante. Elle peut être prévenue par des mesures générales visant à augmenter les apports calciques et par une administration précoce dès les premiers jours de la corticothérapie de calcium et de vitamine D chez tous les patients, d'autant plus qu'ils présentent des facteurs de risque d'ostéoporose (sujet âgé, femme ménopausée, immobilisation prolongée).

-complications cutanées : acné et folliculite bactérienne, vergetures, érythrose, purpura, ecchymoses, troubles de la pigmentation et retard à la cicatrisation.

-myopathie cortisonique : elle est fréquente et invalidante, rhizomélisque, indolore et insidieuse. Elle entraîne fréquemment une amyotrophie. Elle peut être différenciée d'une atteinte musculaire inflammatoire car les enzymes musculaires (CPK) sont normales. Elle peut être améliorée par une kinésithérapie. Les corticoïdes entraînent plus rarement des ruptures tendineuses.

✓ Infections :

On observe sous corticoïdes une susceptibilité accrue aux infections, d'origine multifactorielle. Il est classique d'observer une hypogammaglobulinémie chez les malades recevant de fortes doses de corticoïdes de manière prolongée.

✓ Cataracte :

Le risque de développer une cataracte, de localisation sous capsulaire postérieure, est proportionnel à la dose totale de corticoïdes qu'a reçu le patient. Des variations inter-individuelles de développer ce type de complications pour une dose donnée de prednisone sont cependant observées. Il faut pratiquer un examen ophtalmologique de dépistage en cas de baisse de l'acuité visuelle.

✓ Troubles neuro-psychiques :

Les corticoïdes entraînent fréquemment des signes d'imprégnation sans gravité : surexcitation, euphorie, logorrhée, insomnie. Les accidents majeurs sont beaucoup plus rares, réalisant des tableaux psychotiques aigus.

✓ Réactions d'hypersensibilité :

Il existe des réactions d'hypersensibilité immédiate après administration de corticoïdes pouvant aller de poussées urticariennes à choc anaphylactique. Cette dernière complication est décrite surtout chez des sujets asthmatiques, allergiques à l'aspirine, après administration intraveineuse.

✓ Modifications hématologiques :

Sous corticoïdes, il est classique d'observer une hyperleucocytose à polynucléaires neutrophiles liée à une démargination. En début de traitement, cette hyperleucocytose peut dépasser 20 000/mm³. En revanche, le nombre des lymphocytes et des éosinophiles diminue.

1.3. Bilan à la mise en place d'une corticothérapie générale prolongée :

-examen clinique : poids, pression artérielle, recherche de foyers infectieux potentiels, électrocardiogramme, intra-dermoréaction à la tuberculine, examen ophtalmologique.

-examens paracliniques : numération formule sanguine-plaquettes, ionogramme sanguin avec glycémie à jeun, calcémie, phosphorémie, examen cyto bactériologique des urines, radiographie du thorax. En fonction du contexte, certains auteurs pratiquent un examen parasitologique des selles.

1.4. Mesures diététique :

Le respect d'un régime alimentaire est indispensable, en s'aidant des conseils d'un service diététique, notamment chez le sujet âgé, obèse, diabétique, hypertendu, insuffisant cardiaque ou rénal :

- régime normocalorique éliminant les sucres d'absorption rapide (sucre, confiseries, confiture, miel, chocolat, boissons sucrées et alcoolisées), qui prévient le diabète et l'apparition d'une obésité facio-tronculaire ;
- régime sans sel strict pour des posologies supérieures à 20 mg/jour. Chez le sujet âgé, bien que le risque soit majoré, il faut se méfier du dégoût alimentaire provoqué par le régime sans sel ;
- régime pauvre en matières grasses animales ;
- Régime hyperprotidique.

La supplémentation potassique n'est justifiée que pour les traitements à forte dose, prescrits pendant une durée longue ou chez des patients symptomatiques (crampes musculaires) ou ayant une hypokaliémie documentée.

2. Les immunosuppresseurs :

Les indications des immunosuppresseurs varient selon l'affection et le contexte clinique. Les immunosuppresseurs sont ainsi parfois justifiés d'emblée seuls ou en association aux corticoïdes ; ailleurs ils sont utilisés en seconde intention pour franchir un seuil de cortico-dépendance ou en cas d'échec des corticoïdes seuls. Les choix de l'immunosuppresseur est fonction de l'affection en cause et repose idéalement sur la physiopathologie. Ainsi par exemple

lorsque l'immunité humorale est prépondérante, il est logique de choisir un médicament actif sur les lymphocytes B (LB).

L'introduction d'un traitement immunosuppresseur n'est pas anodine et en modifiant la qualité et l'intensité de la réponse immunologique, les médicaments immunosuppresseurs exposent en tout premier lieu au risque infectieux dont l'intensité et le type varient en fonction de la molécule prescrite. Une telle éventualité impose donc de respecter un certain nombre de précautions élémentaires comme s'assurer de la bonne indication du traitement immunosuppresseur, vérifier l'absence de contre-indication que représente un foyer infectieux ou une infection en cours, et assurer un suivi clinique et biologique tout au long du traitement. Il faut donc vérifier au préalable l'absence de foyer infectieux, présent ou potentiel, notamment dentaire et ORL, l'absence d'infection évolutive, et toujours se méfier du réveil d'une tuberculose ancienne si celle-ci n'a pas été correctement traitée. Dans ce dernier cas, il sera alors nécessaire de couvrir ce risque par un traitement antituberculeux complet. Enfin, les vaccins vivants seront contre-indiqués chez les patients recevant un traitement immunosuppresseur.

2.1. Azathioprine :

L'azathioprine est une prodrogue rapidement transformée en 6-mercaptopurine qui agit sur la synthèse de l'ADN des cellules en division, en particulier des leucocytes. Elle abaisse le nombre des lymphocytes, en particulier des lymphocytes T (LT) CD8⁺, alors que son action semble moindre sur les LB. Elle contribue aussi à diminuer la synthèse des immunoglobulines, la sécrétion d'interleukine (IL)-2 et de TNF α .

- Indications et modalités de prescription :

L'azathioprine est indiquée dans le traitement de fond du LED, d'autres connectivites comme le syndrome de Gougerot-Sjögren et de certaines vascularites systémiques. Elle peut être prescrite en relais du cyclophosphamide.

La posologie habituelle est de 2 à 3 mg/kg/j en 2 prises per os. L'efficacité clinique est souvent retardée de 4 semaines environ.

- Effets secondaires :

Les effets secondaires sont rares : une réaction d'intolérance avec toxicité hépatique (cytolyse modérée), digestive (nausées, vomissement, douleurs abdominales), allergie cutanée (éruption maculopapuleux, urticaire) et fièvre .

2.2. Cyclophosphamide :

Le cyclophosphamide est un alkylant cytotoxique pour les LT, LB et les cellules NK.

- Indications et modalités de prescription :

Cyclophosphamides est indiqué dans le traitement de fond de certaines formes graves de LED ou d'autres connectivites et de certaines vascularites systémiques comme la granulomatose de Wegener ou les vascularites du groupe de la périartérite noueuse en l'absence d'infection virale documentée et lorsqu'ils existent des signes de gravité.

Il est administré par voie intraveineuse en bolus sur une heure toutes les 3 ou 4 semaines, sa posologie varie de 0.6 à 0.7 g/m², diminuée à 0.5 g/m² chez les sujet âgé ou en cas d'insuffisance rénale. Sa toxicité vésicale immédiate justifie une bonne hydratation et l'association au Mesna (agent cytoprotecteur).

Prescrit par voie orale, sa posologie habituelle est de 1 à 2 mg/kg/j en association au Mesna per os (un comprimé par jours). L'efficacité clinique est obtenue rapidement vers la deuxième semaine.

- Effets secondaires :

Le cyclophosphamide expose à une toxicité hématologique aiguë dose dépendante, nécessitant un contrôle mensuel de l'hémogramme. Les autres effets secondaires sont digestifs (nausées, vomissement, rarement diarrhées), vésicaux liés à un de ses métabolites (cystites hémorragiques interstitielles immédiates ou retardées exposant au risque tardif de cancer de vessie). Les risques de cystite hémorragique sont systématiquement prévenus par hydratation suffisante et de l'adjonction de Mesna. La toxicité gonadique et aussi dose dépendante et expose au risque d'azoospermie pouvant être irréversible et de ménopause précoce lorsque la dose cumulée dépasse 12 grammes. La question de l'hypofertilité induite par ce médicament doit être abordée avec le patient avant de débiter le traitement.

2.3. Méthotrexate :

La méthotrexate est anti-métabolique anti-folique inhibiteur de la synthèse de l'ADN. A forte dose, le méthotrexate est utilisé dans le traitement des hémopathies malignes ou des tumeurs solides. A posologie faible, il possède aussi une activité anti-inflammatoire (par accumulation d'adénosine et baisse des leucotriènes) et immunosuppressive en particulier sur les LT dont les mécanismes sont mal connus.

- Indications et modalités de prescription :

Le méthotrexate est indiqué dans le traitement de fond de la polyarthrite rhumatoïde, mais aussi dans les myosites inflammatoires, et plus rarement dans certaines connectivites ou vascularites systémiques.

Les posologies utilisées en médecine interne varient de 7,5 (dans la polyarthrite rhumatoïde) à 40mg (dose maximale prescrite dans les myosites inflammatoires) en une prise hebdomadaire per os (1 à 3 prises) ou par voie intramusculaires. Son efficacité est généralement obtenue après 1 voire 2 mois de traitement.

- Effets secondaires :

Les effets secondaires sont fréquents mais le plus souvent bénins : troubles digestifs (nausées, vomissements, diarrhée), éruption cutanée allergique ; cytolysé hépatique, cytopénies dose dépendantes, mucite. Ces dernières sont prévenues par l'administration 1 à 2 jours après chaque prise de 25 mg d'acide folinique. Beaucoup plus rares mais particulièrement graves sont les troubles neurologiques centraux (confusion, encéphalopathie, en particulier chez les sujets âgés). Les pneumopathies interstitielles fibrosantes et le risque de cirrhose hépatique à long terme. Du fait de ses propriétés anti-métaboliques, le méthotrexate est formellement contre-indiqué en cas de grossesse ou d'allaitement, et sa prescription ne peut se faire que sous couvert d'une contraception orale chez les femmes en période d'activité génitale.

2.4. léflunomide :

Le léflunomide est un immunomodulateur qui inhibe la synthèse de novo des pyrimidines en inhibant la dihydro-orotate déshydrogénase.

- Indication et modalités de prescription :

Il est indiqué dans le traitement de fond de la polyarthrite rhumatoïde active de l'adulte. Après une dose d'attaque de 100 mg/j 3 jours de suite, la posologie de léflunomide est de 20 mg/j.

- Effets secondaires :

Il peut occasionner des troubles digestifs (vomissements, diarrhées, douleurs abdominales), des céphalées, des troubles hématologiques, des hépatites ou des réactions allergiques. Son potentiel tératogène nécessite une contraception efficace, même plusieurs mois après son arrêt.

2.5. Ciclosporine A :

La ciclosporine agit essentiellement sur les LT. Elle inhibe une protéine de régulation, la calcineurine, et bloque ainsi l'activation du gène de l'IL2 et la transcription des ARN messagers codant pour l'IL-2

- indications et modalités de prescription :

les posologies utilisées dans les maladies auto-immunes ou inflammatoires systémiques sont généralement moindres que celles utilisées au cours des transplantations et varient entre 3 et 5 mg/kg/j en deux prises orales quotidiennes. La pharmacocinétique varie d'un individu à l'autre et il existe de nombreuses interactions médicamenteuses ; toutefois la pharmacocinétique de la forme micronisée est beaucoup plus stable.

- Effets secondaires :

De nombreux effets secondaires ont été décrits, en général dose dépendants. Les principaux sont la toxicité rénale, l'hirsutisme, le tremblement

et l'hypertrophie des gencives. La toxicité rénale est l'effet secondaire majeur. Elle est soit aiguë et réversible (augmentation des résistances vasculaires intra-rénales), soit chronique plus ou moins réversible pouvant évoluer vers la fibrose. Une hypertension artérielle est souvent associée. Sa toxicité rénale justifie une surveillance spécifique par la mesure de la créatininémie et le dosage de la concentration résiduelle de ciclosporine.

2.6. mycophenolate mofetil :

Le mycophenolate mofetil est une prodrogue inactive qui après hydrolyse libère de l'acide mycophénolique. Inhibe la prolifération des LB et des LT en inhibant sélectivement et de manière réversible l'inosine monophosphate déshydrogénase nécessaire à la synthèse des nucléosides guanosique. Inhiberait également la production de diverses cytokines et molécules d'adhésion.

- Indication et modalités de prescription :

Le mycophenolate mofetil est de plus en plus utilisé dans le LED où il est actuellement évalué en traitement d'entretien dans certaines vascularites systémiques. La dose usuelle utilisée chez l'adulte est de 2g/j en 2 prises.

- Effets secondaires :

Il entraîne une diarrhée dans 10% des cas. On peut noter également une asthénie, de la fièvre et plus rarement des douleurs, un syndrome pseudogrippal, et la survenue de malaises. Comme les autres immunosuppresseurs, le mycophenolate mofetil expose au risque de survenue d'infections[65].

3. Nouvelles approches thérapeutique :

Les immunomodulateurs peuvent favoriser l'émergence d'infections opportunistes. Ces effets indésirables ont conduit au développement de nouveaux traitements considérés comme plus spécifiques et qui seraient théoriquement capables d'inhiber la réponse auto-immune, sans majorer le risque infectieux. Le mode d'action de ces nouveaux traitements repose sur une meilleure compréhension des mécanismes physiopathologiques des MAIS et cible les différentes étapes de la synapse immunologique. Les molécules participant à la présentation de l'antigène, les molécules de co-stimulation et leurs voies de signalisation, mais aussi les cytokines, les chimiokines et les molécules d'adhésion constituent les points d'impact potentiels de ces nouveaux agents thérapeutiques.

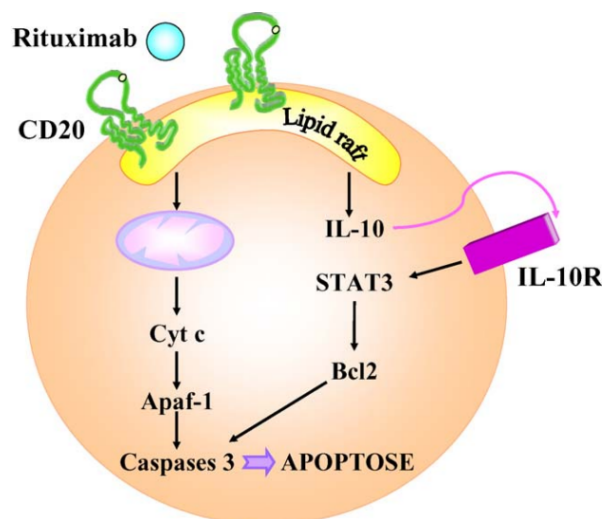
3.1. Les inhibiteurs des lymphocytes B

La présentation des antigènes dans un contexte pathologique peut conduire à l'activation de lymphocytes B (LB) autoréactifs sécrétant des auto-anticorps qui peuvent être pathogènes. Ces LB sécrètent des cytokines (IL-10, IL-4, TNF α) et des chimiokines qui activent les cellules dendritiques et les lymphocytes T (LT) autoréactifs favorisant les processus auto-immuns. Ces mêmes LB sont capables de présenter les antigènes et d'entretenir la réponse auto-immune. Tous ces éléments constituent autant d'arguments en faveur du rôle majeur des lymphocytes (LB) dans la pathogénie des maladies auto-immunes. L'inactivation des LB au cours des MAIS peut s'envisager en faisant appel à des inhibiteurs spécifiques. Trois voies sont actuellement à l'étude : déplétion des LB par anticorps anti-CD20, inhibition du système BLyS, et tolérogènes spécifiques du LB[66].

✓ Anticorps monoclonal anti-CD20

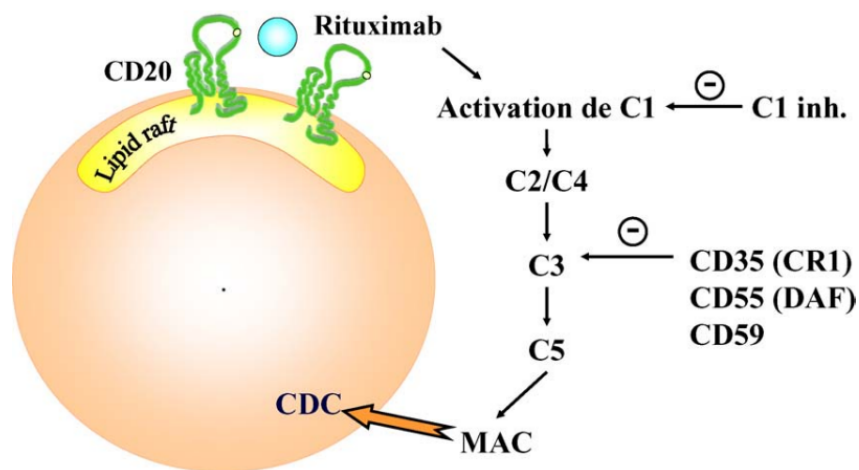
Le CD20 est un antigène de surface présent sur les LB et pré-B. Il n'est pas exprimé à la surface des plasmocytes. Le rôle exact du CD20 n'est pas encore connu et son ligand naturel est encore inconnu.

Le rituximab est un Ac monoclonal formé des régions variables d'un Ac murin anti-CD20 fusionnées avec des fragments constants d'une chaîne lourde humaine IgG-1 associés à une chaîne légère kappa. Le fragment constant peut fixer le complément et entraîner une cytotoxicité cellulaire dépendante des Ac (ADCC). Le rituximab détruit les LB par 3 mécanismes principaux : apoptose, cytotoxicité dépendante du complément et ADCC.



Induction de l'apoptose de LB par le Rituximab

Figure 37 : Apoptose induite par le rituximab (anti-CD20) : l'activation de l'apoptose est liée essentiellement à la voie mitochondriale (cytochrome C). Le rituximab est aussi capable de réduire l'expression de molécule antiapoptotique (Bcl2, XIAP, Mcl-1). [67].



Induction d'une complément dependente cytotoxicité (CDC)

Figure 38 : Cytotoxicité dépendante du complément (CDC ou Complement dependant cytotoxicity) induite par le rituximab (anti-CD20) : le rituximab qui est une IgG1 active le complément par son fragment Fc. Le complément activé est régulé par des protéines inhibitrices[67].

Les anticorps anti-CD20 sont actuellement évalués dans de nombreuses pathologies auto-immunes (lupus, polyarthrite rhumatoïde, purpura thrombopénique immunologique, anémie hémolytique auto-immune, cryoglobulinémies, polyneuropathies auto-immunes, maladie de Wegener).

Le rituximab a initialement été administré chez les patients atteints de maladies auto-immunes, sous la forme d'une perfusion de 375 mg/m²/sem pendant 4 semaines consécutives. Par la suite, le rituximab a été utilisé au cours de la PR à la posologie de 2 perfusions de 1 000 mg à 15 jours d'intervalle et une autorisation de mise sur le marché (AMM) a été obtenue dans cette indication[68].

✓ Inhibiteur du système BLyS

Le système BLyS (B Lymphocyte Stimulator) est un système d'activation spécifique des LB qui permet leur prolifération et la synthèse des immunoglobulines. BlyS, aussi appelé BAFF, THANK, TALL-1 et zTNF4, est un membre de la superfamille du TNF. Il peut se fixer sur 3 récepteurs appelés TACI, BCMA et BAFF-R exprimés sur LB. Des données expérimentales suggèrent que BLyS joue un rôle important dans la pathogénie du syndrome de Gougerot Sjögren, du lupus systémique et de la polyarthrite rhumatoïde. Un anticorps monoclonal anti-BLyS (belimumab) a été développé à des fins thérapeutiques. Il s'agit d'une IgG1 lambda chimérique. L'anti-BLyS a été évalué dans un essai de phase 1 dans le lupus systémique avec une bonne tolérance. Cet anticorps était capable de diminuer les LB circulants mais n'avait, en revanche, pas d'effet sur l'évolution des anticorps antiADN double brin.

✓ Toléroènes spécifiques du lymphocyte B

Les anticorps anti-CD20 et le Lympho-Stat B « ciblent » les LB, mais de façon globale. De nouveaux produits, en cours de développement, inhibent spécifiquement les LB producteurs d'anticorps considérés comme pathogènes. C'est le cas notamment du LJP 394 (Riquent®, abetimus sodium) qui est formé de 4 bras d'oligonucléotides double brin fixés sur une plate-forme, non immunogénique, en polyéthylène-glycol (PEG). Ces bras d'ADN sont capables de lier avec une grande affinité les anticorps anti-ADN natifs. Le Riquent®, en se liant aux immunoglobulines membranaires des LB, entraîne une dimérisation des immunoglobulines membranaires et conduit à l'apoptose spécifique des cellules productrices d'anticorps anti-ADN. Par ailleurs, en formant des complexes immuns de grande taille avec les anticorps anti-ADN, le Riquent®

favorise la clairance de ces auto-anticorps. De plus, il est possible de mesurer chez les patients, la capacité de leurs auto-anticorps à se lier avec l'antigène présenté sur la plaque de PEG. Ceci permet d'optimiser le traitement en identifiant les patients dont les anticorps se lient de manière très spécifique au Riquent®.

3.2. Les inhibiteurs de la Co-stimulation

La présentation de l'antigène par les cellules présentatrices (CPA) aux LT s'accompagne d'une interaction entre ces 2 cellules, indispensable à l'activation du LT. Les CPA expriment à leur surface des molécules de co-stimulation, B7 et CD40 qui vont entrer en contact avec leurs ligands respectifs, CD28 et CD40 ligand (CD154), exprimés à la surface du LT. L'interaction B7-CD28 induit l'expression d'un autre antigène CTLA4 capable d'entrer en contact avec B7. Le signal B7-CTLA4 a un effet inhibiteur de l'activation lymphocytaire et se fait avec une affinité supérieure à B7-CD28. L'inhibition de ces co-stimulis est particulièrement intéressante, car elle n'agirait que sur les LT en voie d'activation. Plusieurs inhibiteurs de la co-stimulation ont été développés dans le traitement des MAIS avec des fortunes diverses.

✓ Le CTLA4-Ig :

Le CTLA4-Ig (abatecept) est une protéine de fusion formée du CTLA4 et du fragment Fc d'une IgG1. Elle se fixe sur B7 avec une affinité supérieure à CD28 et permet d'inhiber ainsi l'interaction activatrice B7-CD28. Dans un modèle de lupus murin, le CTLA4-Ig prolongeait la survie, réduisait l'intensité de la néphropathie lupique et bloquait la production d'auto-anticorps. Chez l'homme, ces 2 molécules ont été récemment évaluées dans la polyarthrite

rhumatoïde avec une très bonne tolérance et une efficacité intéressante. Un essai de phase II est actuellement en cours dans le lupus systémique.

✓ Inhibiteurs de la co-stimulation CD40 - CD40 ligand :

La voie de co-stimulation CD40 - CD40 ligand apparaissait comme une cible intéressante. Plusieurs anticorps monoclonaux anti-CD40L ont été produits dont un, le BG9588, a été évalué dans une étude ouverte multicentrique ayant inclus 28 patients lupiques. Deux patients ont eu un infarctus du myocarde entraînant l'arrêt prématuré de cet essai. Les thromboses induites par ces anticorps anti-CD40 ligand chez l'homme et les primates s'expliquent probablement par l'expression de CD40 à la surface des plaquettes activées.

3.3. Inhibiteurs spécifiques des lymphocytes T :

Le blocage des LT autoréactifs, cellules clés dans la pathogénie des MAIS, est une voie intéressante. Il n'existe toutefois pas actuellement d'inhibiteur spécifique des T autoréactifs. Différentes approches ayant pour cible le LT peuvent cependant être envisagées. Les inhibiteurs des LT (anticorps anti-CD4 efficace dans des modèles murins) sont dirigés contre l'ensemble des LT et ne sont donc que peu spécifiques.

Récemment, un nouvel anticorps monoclonal anti-CD3 a été développé. Cet anticorps nommé hOKT3gamma1 (AlaAla) est un anti-CD3 dont le fragment Fc a été modifié de façon à le rendre incapable de lier aux récepteurs Fc. Cet anticorps agirait en stimulant l'expansion de LT CD8 régulateurs capables d'inhiber les LT CD4 autoréactifs. Le mécanisme d'action de cet anticorps permet d'envisager son utilisation dans plusieurs maladies auto-immunes.

3.4. Modulation des cytokines et des chimiokines

les thérapeutiques anti-tumor necrosis factor alpha (TNFa) ont bouleversé la prise en charge des patients atteints de polyarthrite rhumatoïde (PR), mais aussi de spondylarthrite ankylosante, d'entérocopathies inflammatoires, en particulier maladie de Crohn et rectocolite hémorragique, de rhumatisme psoriasique et de psoriasis en plaques. Au cours de ces affections, les traitements anti-TNFa, qu'il s'agisse des anticorps monoclonaux [infliximab (RemicadeW) et adalimumab (HumiraW)] ou du récepteur soluble du TNFa dimérisé combiné à un fragment Fc d'immunoglobuline G (IgG), ont une efficacité démontrée dans des études prospectives randomisées contre placebo et ont obtenu une autorisation de mise sur le marché (AMM). Les anti-TNFa sont également utilisés en pédiatrie dans le traitement de l'arthrite chronique juvénile polyarticulaire. Les anti-TNFa ont également été testés dans un certain nombre de maladies auto-immunes ou inflammatoires systémiques, en particulier dans des formes sévères ou réfractaires aux autres traitements : vascularites systémiques, maladie de Behçet, connectivites, sarcoïdose, maladie de Still de l'adulte, amylose AA, TRAPS au cours desquelles les données sont aujourd'hui insuffisantes pour permettre l'obtention d'une AMM[69].

Le développement des anticorps dirigés contre les cytokines fait surtout suite au succès récent des anti-TNF dans la polyarthrite rhumatoïde. De nombreuses cytokines peuvent être la cible d'anticorps monoclonaux. Ainsi, un anticorps monoclonal anti-IL12 a été évalué au cours de la maladie de Crohn avec une certaine efficacité. Un anticorps anti-IL-10 a été testé dans le lupus systémique. La modulation cytokinique est une cible thérapeutique potentiellement intéressante dans les maladies systémiques, mais la complexité

du réseau cytokinique rend sa manipulation difficile. Les chimiokines participent au trafic des cellules immunitaires dans les organes. La modulation de ces molécules constitue une nouvelle approche thérapeutique intéressante qui est actuellement en cours de développement au cours du SIDA (molécules de type leurre de chimiokines, anticorps monoclonaux anti-chimiokines). Il est fortement probable que ces molécules participeront à l'arsenal thérapeutique des maladies auto-immunes (anticorps anti-MCP-1 par exemple).

3.5. Modulation des molécules d'adhésion :

Une autre catégorie de protéines joue un rôle important dans le trafic des cellules immunitaires. Il s'agit des molécules d'adhésion (adhésines) dont les intégrines présentes sur les lymphocytes et les monocytes. Les adhésines sont constituées de deux chaînes alpha et bêta. Par exemple, les intégrines alpha4-bêta1 se lient à VCAM-1 qui est exprimé sur les cellules endothéliales et les intégrines alpha4-bêta7 se lient à MadCAM-1 qui est exprimé dans le tube digestif. Le natalizumab est un anticorps monoclonal dirigé contre la chaîne alpha-4 des adhésines. Il a été évalué dans la maladie de Crohn et la sclérose en plaques. Son efficacité au cours de la SEP était remarquable ; les patients sous natalizumab ne développaient pas de nouvelles lésions à l'IRM. Malheureusement, certains patients ont développé sous natalizumab des leuco-encéphalopathies multifocales progressives à virus JC justifiant une interruption prématurée des essais thérapeutiques avec cet anticorps monoclonal[66].

4. Autre mesures :

Il est important de mentionner l'importance d'instaurer une relation de confiance étroite entre le médecin spécialiste et le patient de manière à détecter précocement les effets secondaires des traitements et les signes d'une poussée évolutive de la maladie de fond. Il est également très important d'informer régulièrement le médecin généraliste du patient de manière à améliorer sa prise en charge.

Il faut habituellement déclencher une prise en charge complète en affection longue durée.

Des mesures visant à améliorer le ressenti de la maladie comme la kinésithérapie, le traitement de la douleur, la prise en charge psychologique des handicaps, l'adaptation du poste de travail font partie intégrante du projet thérapeutique. De même, la prévention solaire, l'arrêt d'un traitement hormonal contenant des œstrogènes et l'éviction de certains médicaments inducteurs de manifestations auto-immunes doivent être signalés au patient dans certaines pathologies comme le lupus. Dans la mesure du possible, il est bon de remettre au patient les coordonnées d'une association de malades si elle existe[65].



VII. Modalités de surveillance

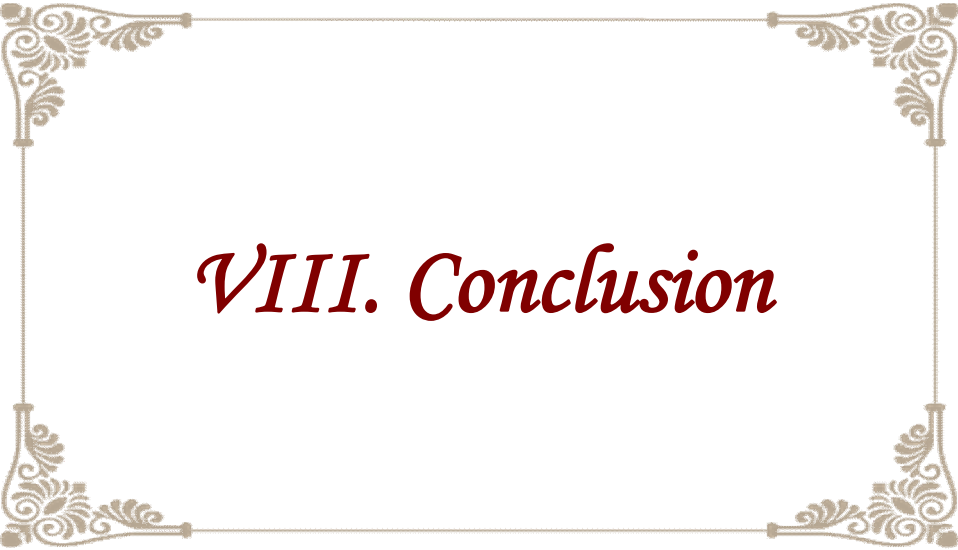
Les modalités de surveillance des maladies auto-immunes ou inflammatoires systémiques consistent à détecter des effets secondaires des traitements et d'autre part à mettre en évidence précocement une nouvelle poussée évolutive de la maladie.

○ Corticothérapie :

- Clinique (mensuel) : poids, prise de la pression artérielle, évaluation de la force musculaire, recherche de foyer infectieux
- Biologique (mensuel) : NFS-plaquettes, ionogramme sanguin (kaliémie), glycémie à jeun, bilan lipidique, électrophorèse des protéines.
- Radiographie thoracique (annuel).
- Consultation ophtalmologique (annuel).
- Ostéodensitométrie

○ Immunosuppresseurs :

- Clinique (mensuel) : température, recherche de foyer infectieux.
- Biologique(mensuel) : NFS-plaquettes (neutrophiles, lymphocytes), lymphocytes T CD+ (cyclophosphamide), créatinine (cyclophosphamide, ciclosporine), électrophorèse des protéines, enzymes hépatiques (azathioprine), sédiment urinaire (cyclophosphamide), dosage des taux plasmiqes de certains immunosuppresseurs (ciclosporine...)
- Radiographie thoracique (annuel)[65].



VIII. Conclusion

L'auto-immunologie est en plein développement car elle présente d'importantes perspectives pour des pathologies complexes responsables de nombreuses maladies. On compte actuellement plus de soixante maladies étiquetées «auto-immunes» essentiellement parce qu'elles sont associées à la présence d'autoanticorps dans le sérum. Plus de cent cinquante autoanticorps ont pu être identifiés.

Ceux-ci présentent un intérêt majeur en médecine. Ils font partie des critères de diagnostic et/ou de classification de nombreuses affections. Ils précèdent généralement l'expression clinique complète de la maladie et ils peuvent constituer un facteur prédictif puissant de son évolution. Ils permettent souvent de dépister les formes frustes de certaines maladies ou celles qui se présentent avec des tableaux cliniques atypiques.

Les progrès gigantesques effectués en immunologie n'ont pu se réaliser que grâce à l'optimisation de nouvelles technologies. Issues de la recherche, de nouvelles approches et de nouvelles technologies sont en train de révolutionner les méthodes de recherche et d'identification des autoanticorps. L'auto-immunologie a été transférée des laboratoires spécialisés dans les laboratoires de routine.



Résumés

Résumé

Titre : le diagnostic biologique des maladies auto-immunes systémiques

Auteur : OMayma LAMDARSI

Mots-clés : maladies auto-immunes systémiques, diagnostic biologique, auto-anticorps.

L'auto-immunité est la rupture des mécanismes de tolérance qui conduit à l'action pathogène du système immunitaire vis-à-vis de constituants naturels de l'organisme et à l'apparition d'une maladie dite auto-immune.

Les principaux représentants des maladies auto-immunes systémiques sont les connectivites et les vascularites, certaines ont une très faible prévalence et répondent à la définition des maladies rares comme les myopathies inflammatoires (polymyosite et dermatomyosite), la sclérodermie systémique ou le lupus systémique. D'autres sont plus fréquentes comme le syndrome de Gougerot-Sjögren et la maladie de Horton.

La plupart des maladies auto-immunes sont caractérisées par la présence d'auto-anticorps dont certains sont de véritables marqueurs diagnostiques ou pronostiques. La recherche des auto-anticorps est un élément clé du diagnostic.

De nombreuses méthodes sont utilisées pour la recherche des auto-anticorps. Elles consistent à visualiser l'interaction de l'auto-anticorps à rechercher avec son antigène cible à l'aide d'un anticorps anti-immunoglobulines humaines marqué. L'immunofluorescence indirecte est le plus souvent une technique de dépistage, les techniques immunoenzymatiques, radio-immunologiques, fluorimétriques ou la chimiluminescence permettent d'identifier la cible des auto-anticorps dépistés mais aussi de rechercher des auto-anticorps de façon directe et spécifique.

Le traitement des maladies auto-immunes fait souvent appel à une stratégie d'immunosuppression non spécifique associant habituellement la corticothérapie et les antimitotiques. Ces traitements ne sont pas dénués d'effets iatrogènes, ce qui a conduit au développement de nouveaux traitements considérés comme plus spécifiques et qui seraient théoriquement capables d'inhiber la réponse auto-immune, sans majorer le risque infectieux.

Summary

Title: biological diagnosis of systemic autoimmune diseases

Author: OMayma Lamdarsi

Keywords: systemic autoimmune diseases, biological diagnosis, autoantibodies.

Autoimmunity is the rupture of tolerance mechanisms that leads to the pathogenic action of the immune system towards natural constituents of the body and the appearance of autoimmune disease.

Systemic autoimmune diseases are mostly represented by the connectivitis and vasculitis, some have a very low prevalence so that they are considered as rare diseases such as inflammatory myopathies (polymyositis and dermatomyositis), systemic scleroderma or systemic lupus. Others are more common like Gougerot-sjogren syndrome and Horton's disease.

Most autoimmune diseases are characterized by the presence of autoantibodies, some are reliable diagnostic or prognostic markers. So that the key part of the diagnosis is the search for autoantibodies.

Many of the methods used to search for autoantibodies consist in visualizing the interaction of the autoantibody searched with its antigen specific using a marked human anti-immunoglobulin antibody. Indirect immunofluorescence is most often a screening technique, immunoenzymatic, radioimmunoassay, fluorimetric or chemiluminescence techniques are mostly used to identify the target of the autoantibodies detected, but also to search for autoantibodies in a direct and specific way.

The treatment of autoimmune diseases often uses a non-specific immunosuppression strategy usually involving corticosteroids and antimitotics. However these treatments are not lack of iatrogenic effects, which have led to the development of new treatments considered more specific and theoretically capable of inhibiting the autoimmune response, without increasing the risk of infection.

ملخص

العنوان: التشخيص البيولوجي لأمراض المناعة الذاتية

المؤلف: أميمة لمدرسي

الكلمات الأساسية: أمراض المناعة الذاتية الجهازية ، التشخيص البيولوجي ، الأجسام المضادة الذاتية

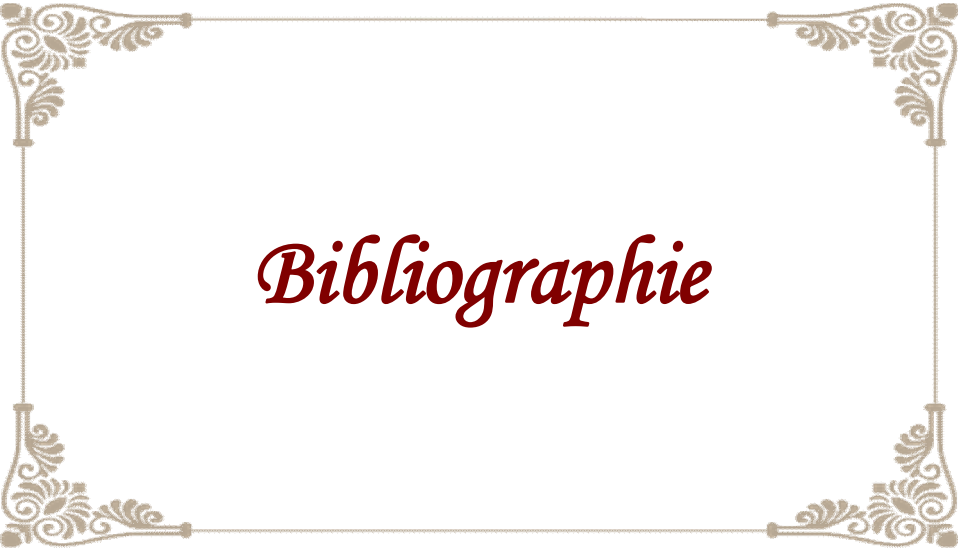
المناعة الذاتية هي نتيجة فشل الجهاز المناعي في تمييز الذات فيقوم بمهاجمة نسيج بتطوير استجابات مناعية ضد احد مكونات الذات ويتسبب في امراض تسمى امراض المناعة الذاتية.

تتمثل امراض المناعة الذاتية الجهازية في التهاب الانسجة الضامية، وتعرف بعضها انتشارا منخفضا بحيث تعتبر امراضا نادرة مثل الاعتلال العضلي الالتهابي (التهاب العضلات و التهاب الجلد) تصلب الجلد او الذئبة الجهازية. والبعض الاخر اكثر شيوعا مثل متلازمة شوغرن ومتلازمة هورتون.

اغلب امراض المناعة الذاتية تتميز بوجود الاجسام المضادة حيث يعتبر بعضها علامات تشخيصية موثوقة والبحث عن هذه الاجسام المضادة هو جزء اساسي من التشخيص.

تستعمل عدة اختبارات للبحث عن الاجسام المضادة, وتتمثل في تصور تفاعل الاجسام المضادة الذاتية المبحوث عنها بمضاضها المحدد باستخدام جسم غلوبولين مناعي مضاد موسوم من اصل انساني في غالب الاحيان تكون تقنية الاشعاع المناعي الغير مباشر هي تقنية التحري، وتمثل تقنيات مثل تقنية مقايسة الممتز المناعي، تقنية المناعة الاشعاعية و تقنية المناعة الفلورية ,تقنيات تحديد اهداف الاجسام المضادة الذاتية ولكن تستخدم ايضا في البحث عن هذه الاجسام بطريقة مباشرة ومحددة.

في غالب الاحيان يتمثل علاج الامراض المناعية الذاتية في استعمال استراتيجيات لكبت المناعة غير الموجهة، عادة ما تستخدم الكورتيكوستيرويدات ومضادات مستقبلية، هذه العلاجات غير خالية من مشاكل علاجية المنشأ ، الشيء الذي ادى الى البحث وتطوير علاجات جديدة تعتبر اكثر تحديدا و قدرة على كبح استجابة المناعة الذاتية دون زيادة خطر العدوى.



Bibliographie

- [1] zahir Amoura, E.A., et al, *médecine interne*. collège national des enseignants de médecine interne, 2005.
- [2] Emile, C., *Dosage des auto-anticorps et interprétation*. Vol. 28. 2017. 17-24.
- [3] Oppezzo, P. and G. Dighiero, *Autoanticorps, tolérance et auto-immunité*. Pathologie Biologie, 2003. **51**(5): p. 297-304.
- [4] Matzinger, P., *The danger model: a renewed sense of self*. Science, 2002. **296**(5566): p. 301-5.
- [5] Luc Mouthon, S., Lacroix-Desmazes, & Loic Guillevin, Srini V. Kaveri, Antonio Coutinho, et Michel D. Kazatchkine, *La reconnaissance immunologique du soi : quelles frontières entre autoréactivité physiologique et pathologie auto-immune ?* ipubli.inserm.fr, 1999.
- [6] Hayter, S.M. and M.C. Cook, *Updated assessment of the prevalence, spectrum and case definition of autoimmune disease*. Autoimmun Rev, 2012. **11**(10): p. 754-65.
- [7] MOUSSAYER, D.K., *L'association AMMAIS au Maroc*. LA GAZETTE DU LABORATOIRE AFRIQUE novembre 2015. **n° 102**.
- [8] Cooper, G.S. and B.C. Stroehla, *The epidemiology of autoimmune diseases*. Autoimmun Rev, 2003. **2**(3): p. 119-25.
- [9] Suzanne E. Lane, R.W., David G. I. Scott, *Epidemiology of systemic vasculitis*. 2005.

- [10] Pons-Estel, G.J., et al., *Understanding the Epidemiology and Progression of Systemic Lupus Erythematosus*. Seminars in Arthritis and Rheumatism. **39**(4): p. 257-268.
- [11] Pillon, F. and Y. Michiels, *Épidémiologie et physiopathologie de la polyarthrite rhumatoïde*. Actualités Pharmaceutiques, 2013. **52**(531, Supplement): p. 1-2.
- [12] Pollard, K.M., *Gender differences in autoimmunity associated with exposure to environmental factors*. J Autoimmun, 2012. **38**(2-3): p. J177-86.
- [13] Zandman-Goddard, G., E. Peeva, and Y. Shoenfeld, *Gender and autoimmunity*. Autoimmun Rev, 2007. **6**(6): p. 366-72.
- [14] Kristiansen, O.P., Z.M. Larsen, and F. Pociot, *CTLA-4 in autoimmune diseases--a general susceptibility gene to autoimmunity?* Genes Immun, 2000. **1**(3): p. 170-84.
- [15] zahir A, E.A., et al, *médecine interne*. 2005. **chapitre 2**: p. 24-34.
- [16] Khan, M.F. and G. Wang, *Environmental Agents, Oxidative Stress and Autoimmunity*. Vol. 7. 2017.
- [17] brouet, j.-c., *l'auto-immunité : mécanismes-physiopathologie* Revue Francophone Des laboratoires, (N ° 302).
- [18] Abul K. Abbas, A.H.L., *Les bases de l'immunologie fondamentale et clinique*. 2009.

- [19] Régent, A., et al., *Auto-immunité humorale et cellulaire : de la physiologie à la pathologie*. La Revue de Médecine Interne, 2009. **30**(12, Supplement 1): p. H1-H8.
- [20] Youinou, P. and Y. Renaudineau, *Le pourquoi et le comment de l'auto-immunité*. Revue Francophone des Laboratoires, 2006. **2006**(384): p. 21-32.
- [21] PARHAM, P., *le système immunitaire*. De Boek Université, 2003: p. 299.
- [22] Mouthon, L., *Épidémiologie, classification des connectivites*. JMV- Journal de Médecine Vasculaire, 2018. **43**(2): p. 74.
- [23] Guillevin, L., C. Pagnoux, and P. Guilpain, *Classification des vascularites systémiques*. Vol. 36. 2007. 845–853.
- [24] Goetz, J., B. Nespola, and J. Sibilia, *Comment prescrire les auto-anticorps: des indications à la « juste prescription »*. Revue Francophone des Laboratoires, 2016. **2016**(484, Supplement 1): p. 8-10.
- [25] *Marqueurs biologiques Des maladies auto-immunes : Choix des techniques, performances, pièges et interprétations*. GIGALAB scientific support, Octobre 2016. **GSS - N° 2**.
- [26] Humbel, R.-L., *Comment rechercher les auto-anticorps ? Choix et performances des méthodes*. Revue Francophone des Laboratoires, 2016. **2016**(484, Supplement 1): p. 11-14.

- [27] Kuby, J., *immunologie* 2008. **6ÈME ÉDITION**: p. 155-161.
- [28] Joëlle GOETZ, A.C., *Immunofluorescence indirecte*. GEAI L'INFO Spécial, 2005: p. 02-05.
- [29] HUMBEL, R.-L., *L'immunodot*. GEAI L'INFO Spécial, 2005: p. 13-14.
- [30] OLSSON, N.-O., *La technologie Luminex® : application à la recherche des autoanticorps*. GEAI L'INFO Spécial, 2005: p. 24-28.
- [31] Stéphanie Petitpierre, V.A., Annette Leimgruber, Pierre-Alexandre Bart, François Spertin, *Rev Med Suisse* 2009. **volume 5**: p. 823-831.
- [32] Pierre YOUINOU, A.S., Paul LE GOFF, *LES ANTICORPS ANTI-NUCLÉAIRES*. cahier bioforma 13, 1999: p. 25-37.
- [33] Magdelaine, C., C. Vigneron, and D. Degenne, *Aspects des anticorps antinucléaires sur les cellules HEp-2*. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2006. **2006**(384): p. 33-41.
- [34] MUSSET, L., *Les anticorps anti-nucléaires: méthodes de détection et interprétation* cahier bioforma 13, 1999: p. 39-72.
- [35] Goetz, J., *Conduite à tenir devant la mise en évidence d'anticorps antinucléaires sur HEp-2*. Vol. 2012. 2012. 7–11.
- [36] Reynaud, P., et al., *Anticorps anti-ADN et anticorps anti-nucléosomes*. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2016. **2016**(484, Supplement 1): p. 48-53.

- [37] Alain Chevailler , C.B., Anne Mcilroy *Dépistage des anticorps dirigés contre des antigènes nucléaires insolubles*. RevueFrancophonedes Laboratoires,juillet-aoQt2006,N ~384, 2006. N°**384**: p. 51-58.
- [38] Myriam Labalette, M.C.B., *Guide des analyses en immunologie*. 2014.
- [39] Chevailler, A., C. Beauvillain, and F. Carrère, *Dépistage des anticorps dirigéscontre les an tigènes nucléaires solubles*. Revue Francophone des Laboratoires, 2006. **2006**(384): p. 59-70.
- [40] Allard, L., et al., *Auto-anticorps anticytoplasme des polynucléaires neutrophiles en pédiatrie : caractéristiques cliniques*. Archives de Pédiatrie, 2013. **20**(3): p. 232-240.
- [41] CHEVAILLER, A., *Détection des ANCA par immunofluorescence indirecte*. GEAI l'info 2011. N°**10**: p. 15-24.
- [42] Ghrairi, N., et al., *Les anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles (ANCA) en pneumologie*. Vol. 26. 2011. 137-142.
- [43] Émile, C., *Les anticorps anticytoplasme des polynucléaires neutrophiles, typiques ou non, en pratique quotidienne*. Option/Bio, 2011. **22**(459): p. 20-21.
- [44] Oksman, F., *Les anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles (ANCA): Détection en immunofluorescence indirecte*. Revue Française des Laboratoires, 2002. **2002**(341, Supplement): p. 24-27.

- [45] Godeau, B. and J.-C. Piette, *Les anticorps antiphospholipides, signification et traitement*. Vol. 33. 2004. 944-952.
- [46] Sanmarco, M., *Les autoanticorps anti-phospholipides sont devenus bien hétérogènes*. Vol. 26. 2011. 47-54.
- [47] Miyara, M., et al., *Anticorps antiphospholipides en pratique*. Vol. 33. 2012.
- [48] Joste, V., M.A. Dragon-Durey, and L. Darnige, *Diagnostic biologique du syndrome des antiphospholipides : des critères à la pratique*. La Revue de Médecine Interne, 2018. **39**(1): p. 34-41.
- [49] Ellouze, R. and S. Guerhazi, *Le syndrome des anti-phospholipides*. Revue Francophone des Laboratoires, 2011. **2011**(436): p. 83-88.
- [50] Sibilia, J., *Syndrome des antiphospholipides : pourquoi faut-il y penser et comment faire le diagnostic ?* Revue du Rhumatisme, 2003. **70**(3): p. 228-234.
- [51] C.Johanet, E.B., *historique des auto-anticorps. indications à leur recherche* maladie auto-immunes du foie, 2006(N°36): p. 59-70.
- [52] C. Johanet, Y.B.A., E. Ballot, *Anticorps "anti-tissus" spécifiques d'organe*. Rev Fr Lab, 2006. **N°36**: p. 71-110.
- [53] Johanet C, H.-J.S., Eyraud V, Ballot E., *Auto-anticorps et pathologies hépatiques*. Rev Fr Lab 2006. **36**(387): p. 25-33.

- [54] Brahim, I., et al., *Hépatites auto-immunes : diagnostic immunologique*. La Presse Médicale, 2017. **46**(11): p. 1008-1019.
- [55] Myriam Labalette , M.C.B., *Guide des analyses en immunologie*. 2014.
- [56] Nicoloudi, A., et al., *Apport des nouveaux examens biologiques au diagnostic de la polyarthrite rhumatoïde*. Immuno-analyse & Biologie Spécialisée, 2007. **22**(3): p. 167-172.
- [57] Jacques CLOT, J.-L.P., *LES FACTEURS RHUMATOÏDES : MÉTHODES DE DÉTECTION ET INTERPRÉTATION* 1999.
- [58] Bas, S., *Utilité des anticorps antiprotéines citrullinées dans le diagnostic et le pronostic de la polyarthrite rhumatoïde*. Rev Med Suisse, 2005. **volume 1**
- [59] Humbel, R. and N.-O. Olsson, *Le point sur les autoanticorps antiprotéines et anti-peptides citrullinés*. Vol. 17. 2005. 34-36.
- [60] Meyer, O., *Apport de l'Immunologie dans le Diagnostic et la Prise en Charge Thérapeutique Précoce de la Polyarthrite Rhumatoïde*. Revue Francophone des Laboratoires, 2006. **2006**(379, Supplement 1): p. 37-43.
- [61] Nicaise-Roland, P., et al., *The citrullinated peptides antibodies assays in rheumatoid arthritis*. Vol. 18. 2003.
- [62] Fabien, N., et al., *Nouveaux autoanticorps de la polyarthrite rhumatoïde : les autoanticorps anti-peptides ou protéines citrullinées et les autres*. Vol. 37. 2008. 1756-1766.

- [63] Sibilia, J., *Diagnostic des maladies auto-immunes*. 2009.
- [64] Lakomy, D. and J. Goetz, *Comment interpréter un résultat d'auto-anticorps ? Les pièges diagnostiques*. Revue Francophone des Laboratoires, 2016. **2016**(484, Supplement 1): p. 18-21.
- [65] zahir A, E.A., et al, *médecine interne*. 2005. **chapitre 4**: p. 46-62.
- [66] Amoura, Z. and J.C. Piette, *Nouvelles approches thérapeutiques des maladies auto-immunes*. Revue Neurologique, 2006. **162**: p. 7-11.
- [67] Sibilia, J. and C. Sordet, *Rituximab: A original biotherapy in auto-immune disorders*. Vol. 26. 2005. 485-500.
- [68] Bussone, G., et al., *Rituximab et traitement des maladies auto-immunes et inflammatoires systémiques*. La Presse Médicale, 2009. **38**(5): p. 808-823.
- [69] Régent, A. and L. Mouthon, *Traitements anti-TNF α dans les maladies auto-immunes et/ou inflammatoires systémiques*. La Presse Médicale, 2009. **38**(5): p. 761-773.



Serment de Galien

Je jure en présence des maîtres de cette faculté :

- *D'honorer ceux qui m'ont instruite dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*
- *D'exercer ma profession avec conscience, dans l'intérêt de la santé publique, sans jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.*
- *D'être fidèle dans l'exercice de la pharmacie à la législation en vigueur, aux règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
- *De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession, de ne jamais consentir à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.*
- *Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses, que je sois méprisée de mes confrères si je manquais à mes engagements.*

قسم الصيدلي

بسم الله الرحمن الرحيم



أقسم بالله العظيم

- أن أراقب الله في مهنتي
- أن أبجل أساتذتي الذين تعلمت على أيديهم مبادئ مهنتي وأعترف لهم بالجميل وأبقى دوما وفيما لتعاليمهم.
- أن أزاول مهنتي بوازع من ضميري لما فيه صالح الصحة العمومية، وأن لا أقصر أبدا في مسؤوليتي وواجباتي تجاه المريض وكرامته الإنسانية.
- أن ألتزم أثناء ممارستي للصيدلة بالقوانين المعمول بها وبأدب السلوك والشرف، وكذا بالاستقامة والترفع.
- أن لا أفشي الأسرار التي قد تعهد إلى أو التي قد أطلع عليها أثناء القيام بمهامي، وأن لا أوافق على استعمال معلوماتي لإفساد الأخلاق أو تشجيع الأعمال الإجرامية.
- لأحضى بتقدير الناس إن أنا تقيدت بعهودي، أو أحتقر من طرف زملائي إن أنا لم أف بالتزاماتي.

والله على ما أقول شهيد

التشخيص البيولوجي لأمراض المناعة الذاتية

أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم

من طرفه

الآنسة: أميمة لمدرسي

المزودة في: 09 يوليوز 1992 بفاس

لنيل شهادة الدكتوراه في الصيدلة

الكلمات الأساسية: أمراض المناعة الذاتية الجهازية - التشخيص البيولوجي - الأجسام المضادة الذاتية.

تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

رئيس	السيد: عز العرب مسرار
مشرف	أستاذ في علم الدم البيولوجي
	السيدة: منى نزيه
	أستاذة في علم الدم البيولوجي
أعضاء	السيد: عبد الله دامي
	أستاذ في الكيمياء الحيوية
	السيدة: سعاد بنكيران
	أستاذة في علم الدم البيولوجي
عضو مشارك	السيد: عبد العزيز الخلو في
	أستاذ مساعد في علم الدم البيولوجي