

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université BLIDA-1



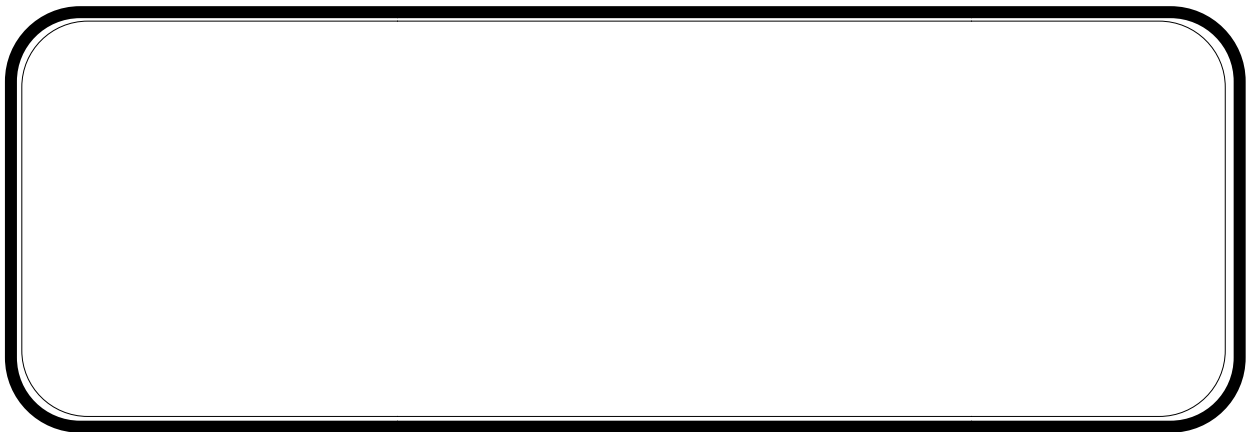
Faculté des Sciences de la Nature et de la vie
Département de Biologie et Physiologie Cellulaire

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

En vue de L'obtention du Diplôme de Master II

Option: Génie Biologique

Thème



Présenté par : M^{lle} RAIS Amina

Soutenu le : 06/11/2014

Devant le jury:

M ^{me} AMOKRANE A.	MAA	Université Blida-1	Présidente
M ^{me} EDDAIKRA A.	MAA	Université Blida-1	Examinatrice
M ^{me} RAHIM I.	MAA	Université Blida-1	Examinatrice
Mr DJENOUHAT K.	Professeur	IPA	Promoteur
Mr BESSAAD M. A.	MCB	Université Blida-1	Co-promoteur



REMERCIEMENTS

Je tiens à présenter mes sincères remerciements et ma plus grande gratitude :

A mon promoteur, Monsieur DJENOUHAT K., de m'avoir bien accueillie au sein de son laboratoire, de m'avoir accordé sa confiance pour mener à terme le sujet qui m'a été proposé, de m'avoir mis à ma disposition tous les moyens nécessaires à la mise en œuvre de ce travail ainsi que de m'avoir introduit dans le monde de la recherche.

Je voudrais également lui témoigner ma profonde gratitude pour le temps qu'il m'a consacré, sa supervision tout au long de mon travail et pour ses précieux conseils et son soutien moral et intellectuel,

Un très grand merci !

A mon Co promoteur, Monsieur BESSAAD M.A., qui a bien voulu par son aimable bienveillance m'aider et m'orienter lorsque j'en ai eu besoin. Je voudrais également lui témoigner ma profonde reconnaissance pour sa disponibilité, et ses orientations judicieuses.

Un très grand merci !

A Madame AMOKRANE, de m'avoir fait l'honneur de présider le jury lors de l'examination.

A Madame EDDAIKRA ainsi qu'à Madame RAHIM, d'avoir pris le temps d'examiner ce modeste travail et de me faire l'honneur d'apporter leur jugement scientifique.

A tout le corps enseignant qui durant ces cinq années s'est attelé à ma formation.

A toute l'équipe du service d'immunologie de l'Institut Pasteur.

Mes remerciements s'adressent particulièrement au Professeur HADDOUM F., chef service de la Néphrologie du CHU NEFISSA HAMOUD HUSSEIN DAY Alger ; Au Docteur RAIS M., médecin au service de gériatrie à l'hôpital Georges Clémenceau, Paris.

Un très grand merci à Isma et Soumya pour leur aide, et leur bonté à mon égard.

Merci à tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.

Merci 

Dédicace



Je dédie ce modeste travail comme preuve de respect, de gratitude, et de reconnaissance :

A toute ma famille, en particulier à mes chers parents ;

Pour leur dévouement et leur soutien tout au long de mes études.

A mes sœurs et mon frère ;

A qui j'ai menée la vie durant la réalisation de mon travail.

A toutes mes amies ;

Mes amitiés les plus sincères ainsi que mes souhaits de réussite et de prospérité...



AmínaRAIS

LISTE DES ABREVIATIONS

Ac Anticorps.

ADAMTS-13: A Disintegrin and Metalloprotease with ThromboSpondin type I motifs, 13e member

Ag : Antigène.

C3 : Fraction C3 du complément.

C4 : Fraction C4 du complément.

CE : Cellule Endothélial.

D.O : Densité Optique.

E. coli : Escherichia coli.

EDTA : anticoagulant chélateur de calcium.

ELISA : Enzyme Linked Immunosorbent Assay (Dosage immunoenzymatique).

FB : Facteur B.

FH : Facteur H.

FI : Facteur I.

FT :Facteur tissulaire.

FvW :Facteur de von Willebrand.

GST : Glutathion transférase.

HTA : Hypertension artériel.

IFN : Interférent.

LDH : Lactate Déshydrogénase.

MAT : Micro Angiopathie Thrombotique.

ORL : Oto-Rhino-Laryngologie.

PCR: Polymérase Chain Réaction.

PTT :Purpura Thrombotique Thrombocytopénique.

SHU :Syndrome hémolytique et urémique.

SHUa : Syndrome Hémolytique et Urémique atypique.

STEC : Shigatoxine Escherichia Coli.

Stx :Shigatoxine.

GLOSSAIRE

ADAMTS-13 :Métallo protéase impliquée dans la régulation de l'activité du Facteur von Willebrand.

Anémie macrocytaire :Au cours de laquelle les GR sont anormalement grand.

Anémie microcytaire : Au cours de laquelle les globules rouges sont anormalement petits.

Anémies hémolytiques :Celles générées par une destruction accélérée des globules rouges.

Anurie :Absence d'urine dans la vessie.

Asthénie : Faiblesse générale.

Bilirubine : Pigment jaune fabriquée par la rate et modifiée par le foie.

Cardiomyopathie : Correspond à un groupe hétérogène de maladies touchant le myocarde.

Céphalée (ou mal de tête) :Symptôme subjectif se définissant comme des douleurs locales ressenties au niveau de la boîte crânienne .

Confusion :Etat pathologique caractérisé par une désorganisation de tous les processus psychiques.

Consanguinité :Un sang commun qui unit deux êtres d'une même famille.

Coproculture : Analyse bactériologique réalisé sur un prélèvement de selles.

Créatinine : Déchet métabolique éliminée principalement par les reins et excrétée dans les urines.

Détresse respiratoire : Processus durant lequel les échanges gazeux- apport de l'oxygène lors de l'inspiration et rejet du gaz carbonique lors de l'expiration.

Entérobactérie : Bactérie de la famille des Enterobacteriaceae, qui colonise le tractus intestinal.

Facteur von willebrand :Glycoprotéine indispensable à l'hémostase primaire comme médiateur principal de l'adhésion des plaquettes au sous-endothélium altéré après une brèche vasculaire.

Glomérule : Petit amas de capillaire (vaisseaux) du rein.

Glomérulonéphrite membrano-prolifératif : Ensemble très hétérogène de maladies du glomérule rénal qui ont cependant des caractéristiques histologiques communes.

Haptoglobine : Protéine présente dans le sang, une augmentation du taux d'haptoglobine dans le sang signale un syndrome inflammatoire.

Hématurie : Emission d'urine contenant du sang.

Hémoglobine : Protéine dont la principale fonction est le transport du dioxygène.

Hémolyse : Destruction des globules rouges libérant l'hémoglobine dans le plasma sanguin.

Ischémie : Insuffisance de la circulation artérielle dans un organe.

Lactate Déshydrogénase : Enzyme de la glycolyse.

Maladie cœliaque : Maladie auto-immune, caractérisée par une destruction de la paroi de l'intestin grêle.

Microangiopathie thrombotique : c'est une lésion (-pathie) caractérisée par la présence de thrombus multiples localisés sur les petits (micro-) vaisseaux (angio-). - maladie touchant les vaisseaux sanguins de très petite taille.

Œdème cérébral : Accumulation inhabituelle de liquide dans les tissus du cerveau.

Oligurie : Production anormalement basse d'urine par l'organisme.

Pâleur cutaneux muqueuse : Pâleur au niveau des conjonctives.

Post partum : Période débute après l'accouchement.

Protéinurie : Présence de protéine dans l'urine, qu'elle soit physiologique ou pathologique.

Purpura Thrombotique Thrombocytopénique (PTT) : purpura « lésion hémorragique », Thrombotique « agrégation plaquettaire ».

Réticulocytes : Précurseurs des globules rouges.

Schizocyte : (*schizo = partage*) désignent des fragments de globules rouges.

Shigatoxine : poison produit par la bactérie *E. coli* et causant une diarrhée grave.

Syndrome Hémolytique et Urémique (SHU) : « Hémolytique » signifie la séparation du sang. « Urémique » signifie qu'il y a de l'urée dans le sang.

Syndrome néphrotique : Résultante d'une atteinte des capillaires glomérulaires.

Test de Coombs : Test sanguin, permet de révéler la présence des anticorps contre les globules rouges.

Thrombopénie : Un chiffre de plaquettes inférieur à 150 000/mm³.

Thrombus : Amas de plaquettes qui se sont agrégées entre elles grâce au processus de la coagulation .

Urée : ou carbamide est un composé organique de formule chimique CO(NH₂)₂. Constitue environ 90 % de l'azote urinaire chez l'adulte. Son dosage urinaire ou sanguin permet d'examiner une augmentation qui traduit généralement une altération des reins.

LAROUSSE MEDICALE, 2013

Index des tableaux	
Index des figures	
Liste des abréviations	
Résumé	
Introduction.....	1

CHAPITRE I : Généralité sur les Microangiopathies Thrombotiques

I.1.Historique.....	3
I.2.Définition.....	3
I.3. Etiologie.....	3
I.3.1. Génétique et immunologique.....	3
I.3.2. Microbiologique.....	4
I.3.3. Enzymatique.....	4
I.4. Caractéristiques anatomo-pathologiques.....	5
I. 5. Caractéristiques clinico-biologiques.....	5
I.6. Données épidémiologiques.....	8
I.7. Physiopathologie	9
I.7.1. Physiopathologie du Syndrome Hémolytique et Urémique atypique.....	9
I.7.2 Physiopathologie du syndrome hémolytique et urémique typique.....	13
I.7.3. Physiopathologie du Purpura Thrombotique Thrombocytopénique.....	13
I.8. Démarche diagnostique	14
I.8.1. Examen biochimique	14
I.8.2. Examen immunologique	14
I.8.3.Examen bactériologique.....	15

CHAPITRE II : Matériel et méthodes

II.1. Matériel biologique.....	17
--------------------------------	----

Matériel non biologique voir annexe

II.2. Méthodes.....	17
II.2.1. Etude de l'activité d'ADAMTS-13 par l'ELISA.....	17
II.2.2. Dosage des fractions C3 et C4 par la néphélométrie laser.....	20
II.2.3. Dosage des fractions FB, FH et FI par l'immunodiffusion radial.....	20

CHAPITRE III : Résultats et discussion

III.1. Caractéristiques générales de la population.....	22
III.1.1. Répartition des patients en fonction du sexe.....	23
III.1.2. Répartirions des patients en fonction des classes d'âge.....	24
III.1.3. Répartition des patients en fonction de l'âge de la première crise.....	25
III.1.4. Répartition des patients en fonction des services de provenance	26
III.1.5. Répartition des patients en fonction de l'antécédent familial.....	27
III.1.6. Répartition des patients en fonction de la consanguinité.....	28
III.1.7. Répartition de la fonction de la symptomatologie.....	29
III.1.8. Répartition des patients en fonction du taux de la mortalité.....	33
III.1.9. Répartition des patients en fonction de l'antécédent personnel.....	34
III.2. Etude de l'activité d'ADAMTS-13.....	35
III.3. Exploration du système de complément.....	36
III.3.1. Hypocomplémentémie.....	37
A. Hypocomplémentémie touchant C3.....	38
B. Hypocomplémentémie avec C3 normal.....	43
III.3.2. Hyper ou Normo complémentémie.....	44

Conclusion.....	47
-----------------	----

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Résumé

Le Syndrome Hémolytique et Urémique atypique (SHUa) est une maladie grave, touchant plusieurs organes vitaux à la fois, avec des manifestations cliniques variables d'un patient à

un autre. Ce syndrome fait partie des Microangiopathies Thrombotiques (MAT) qui regroupent, en plus du SHUa, d'autres maladies comme le Purpura Thrombotique Thrombocytopénique (PTT) et le Syndrome Hémolytique et Urémique (SHU) partageant une symptomatologie commune mais une thérapeutique différente. D'où la nécessité de recourir à des examens complémentaires afin de pouvoir poser le diagnostic de certitude.

Nous avons mené une étude rétro et prospective pendant 3 mois aux niveaux du service d'immunologie de l'Institut Pasteur Dely Ibrahim, Alger. Sur 26 patients dont l'âge varie entre moins d'un an (1 mois) et plus de quarante ans (47ans), présentent les principaux critères évoquant une MAT de façon globale d'une part, et du SHUa de façon précise d'autre part.

Pour diagnostiquer cette pathologie nous nous sommes intéressés dans un premier temps, à mesurer l'activité de l'ADAMTS 13, dont la baisse est spécifique du PTT, par une technique immunoenzymatique ELISA colorimétrique. Pour les patients dont le taux de l'ADAMTS13 est revenu sans anomalie nous avons procédé dans un deuxième temps à l'exploration du système du complément par le dosage antigénique (des fractions : C3, C4) puis (les fractions de la voie alterne : FH, FB et FI) en utilisant respectivement deux méthodes d'immunos dosage différentes : la Néphélométrie laser et l'Immunodiffusion radiale.

Une Hypocomplémentémie portant sur une ou plusieurs fractions de la voie alterne du complément, orientant vers une dysrégulation de cette voie, a été constatée dans (49,99%) de cas. Ce profil est fortement évocateur du SHUa. Cependant le bilan de l'exploration du système du complément est revenu normal (30,76%) ou en faveur d'une activation de la voie classique dans (19,23%) des cas. Ce dernier n'exclue pas le diagnostic d'un SHUa du fait que quelques anomalies génériques de quelques composants de la voie alterne comme le CD46 ne s'accompagnent pas de variations des composants de la voie alterne. D'où l'intérêt d'un test thérapeutique à base de l'Eculizumab, un anticorps monoclonal anti-C5.

Le SHUa reste une pathologie grave, de survenue brutale (69,23%). Il peut être familial vu le taux de consanguinité remarquable (19,23%) ou sporadique. La moitié de nos patients (57,69%) font la maladie avant l'âge de 15 ans. Le diagnostic nécessite un certain nombre de techniques, dont quelques-unes ne sont pas encore développées en Algérie. La prise en charge de ces patients est lourde et coûteuse à la fois.

Mots-clés : Syndrome Hémolytique et Urémique atypique (SHUa), Microangiopathie Thrombotique (MAT), Purpura Thrombotique Thrombocytopénique (PTT), système du Complément, ADAMTS-13, voie alterne.

Summary

Atypical Hemolytic-Uremic Syndrome (aHUS) is a serious disease affecting many vital organs with varying clinical manifestations from one patient to another. This syndrome is one of Thrombotic Microangiopathies (TMA) which includes, in addition to aHUS, other diseases such as Thrombotic Thrombocytopenic Purpura (TTP) and Hemolytic-Uremic Syndrome

(HUS) sharing a common symptom but a different therapy. Hence the need for additional tests in order to diagnose it.

We ruled out a retrospective and a prospective study for 3 months at the Department of Immunology at the Institute Pasteur Dely Ibrahim, Algiers. 26 patients ranging in age from less than one year (1 months) and over forty years (47 years), present the main criteria of thrombotic microangiopathy and Hemolytic Uremic Syndrome atypical so specific.

To diagnose this disease we measured the activity of ADAMTS 13 which is specific of PTT by a colorimetric ELISA immunoassay. For patients whose rate of ADAMTS13 is normal, we proceeded in a second time to the exploration of the complement system by the antigen assay (fractions C3, C4) then (fractions of the alternative pathway (FH, FB and FI) using laser Nephelometry and radial immunodiffusion methods.

Hypocomplementemia affecting one or more fractions of the alternative complement pathway, orienting to dysregulation of this pathway is observed in (49, 99%) of cases. This profile is highly suggestive of aHUS. However the results of exploration of complement system returned normal (30, 76%) or indicating an activation of the classical pathway in (19, 23%) of cases does not exclude the diagnosis of aHUS because some gene abnormalities of some component of the alternative pathway as CD46 are not accompanied by changes in components of the alternative pathway. Hence the importance of a therapeutic based test of Éculizumab, an anti-C5 monoclonal.

aHUS remains a serious disease with acute onset (69.23%). It can be family saw the remarkable rate of consanguinity (19.23%) or sporadic. Half of our patients (57, 69%) do disease before age of 15 years. The diagnosis requires a number of techniques, some of which are not yet developed in Algeria. The management of these patients is both heavy and costly.

Keywords: atypical Hemolytic Uremic Syndrome (aHUS), Thrombotic Microangiopathy (TMA), Thrombotic Thrombocytopenic Purpura (TTP), Complement system, ADAMTS-13, alternative pathway.

ملخص

تُعتبر متلازمة انحلال الدم اليوريمية الشاذة مرضاً خطيراً، يصيب عدة أعضاء حيوية في نفس الوقت، مع أعراض سريرية متباينة من مريض إلى آخر. تشكل هذه المتلازمة جزءاً من اعتلال الأوعية الدقيقة الخثرية والتي تشمل، فضلاً عن متلازمة انحلال الدم اليوريمية الشاذة، أمراض أخرى مثل الفرورية القليلة الصفائح الخثرية و متلازمة انحلال الدم اليوريمية، فهي تشترك في مبحث الأعراض و تختلف في العلاج. من ثمة جاءت الحاجة إلى إجراء دراسات تكميلية من أجل عرض التشخيص المؤكد.

لقد أجرينا دراسة استعادية طيلة ثلاث (03) أشهر على مستوى مصلحة المناعة بمعهد باستور بدالي ابراهيم، الجزائر العاصمة. لـ 26 مريض تتراوح أعمارهم بين أقل من عام (شهر) وأكثر من أربعين سنة (47 سنة)، تظهر عليهم المعايير الرئيسية الدالة على اعتلال الأوعية الدقيقة الخثرية بصفة عامة من جهة، وكذا متلازمة انحلال الدم اليوريمية الشاذة بصفة خاصة من جهة أخرى.

من أجل تشخيص هذا المرض، انصب اهتمامنا في بادئ الأمر على قياس نشاط الإنزيم أدامتز 13 حيث أن انخفاضه يعتبر خاصية الفرورية القليلة الصفائح الخثرية، عن طريق تقنية التحصين بالإنزيمات "إليزا" بقياس اللون. فيما يخص المرضى الذين يظهر لديهم الإنزيم أدامتز 13 دون أي اضطرابات، باشرنا في المرحلة الثانية دراسة نظام المتممة عن طريق وضع جرعات مستضادة (أجزاء: س3، س4) ثم (أجزاء المسلك المتبادل: العامل "ه"، العامل "ب" و العامل "إ") باستعمال طريقتين للمقايسة المناعية مختلفتين على التوالي: المكثافية بالليزر و الانتشار المناعي الشعاعي.

تم اكتشاف نقص المتممة يخص جزء واحد أو عدة أجزاء من المسلك المتبادل للمتممة، مؤدياً إلى خلل في انتظام هذا المسلك، وذلك في (99, 49%) من الحالات. يظهر هذا الجانب على نحو واسع لدى متلازمة انحلال الدم اليوريمية الشاذة. غير أن النتائج اكتشفت نظام المتممة كانت عادية (76, 30%) أو تخدم تنشيط المسلك العادي في (23, 19%) (من الحالات). لا يستبعد هذا الأخير تشخيص متلازمة انحلال الدم اليوريمية الشاذة بما أن بعض الاضطرابات الجينية لبعض مكونات المسلك المتبادل، مثل "CD46" لا تصاحبها تغيرات في مكونات المسلك المتبادل. مما أدى إلى الاهتمام بإجراء اختبار علاجي يعتمد على إيكوليزوماب وهو جسم مضاد أحادي النسيلة ضد الجزء س5.

لا تزال متلازمة انحلال الدم اليوريمية الشاذة مرضاً خطيراً يحدث فجأة (69.23%). قد يكون مألوفاً نظراً للنسبة قرابة العصب الملحوظ (19.23%) أو الفردية. أصيب نصف مرضانا (57.69%) قبل بلوغ سن 15 سنة. يتطلب التشخيص بعض التقنيات حيث أن بعضها لم يتم تطويره بالجزائر. إن التكفل بهؤلاء المرضى يعتبر عبء ثقيلًا ومكلفًا في نفس الوقت.

الكلمات المفتاحية: متلازمة انحلال الدم اليوريمية الشاذة، اعتلال الأوعية الدقيقة الخثرية، الفرورية القليلة الصفائح

الخثرية، نظام المتممة، أدامتز 13 ، المسلك المتبادل.

LISTE DES ABREVIATIONS

Ac Anticorps.

ADAMTS-13: A Disintegrin and Metalloprotease with ThromboSpondin type I motifs, 13e member

Ag : Antigène.

C3 : Fraction C3 du complément.

C4 : Fraction C4 du complément.

CE : Cellule Endothélial.

D.O : Densité Optique.

E. coli : Escherichia coli.

EDTA : anticoagulant chélateur de calcium.

ELISA : Enzyme Linked Immunosorbent Assay (Dosage immunoenzymatique).

FB : Facteur B.

FH : Facteur H.

FI : Facteur I.

FT :Facteur tissulaire.

FvW :Facteur de von Willebrand.

GST : Glutathion transférase.

HTA : Hypertension artériel.

IFN :Interférent.

LDH : Lactate Déshydrogénase.

MAT : Micro Angiopathie Thrombotique.

ORL : Oto-Rhino-Laryngologie.

PCR: Polymérase Chain Réaction.

PTT :Purpura Thrombotique Thrombocytopénique.

SHU :Syndrome hémolytique et urémique.

SHUa : Syndrome Hémolytique et Urémique atypique.

STEC : Shigatoxine Escherichia Coli.

Stx :Shigatoxine.

GLOSSAIRE

ADAMTS-13 :Métallo protéase impliquée dans la régulation de l'activité du Facteur von Willebrand.

Anémie macrocytaire :Au cours de laquelle les GR sont anormalement grand.

Anémie microcytaire : Au cours de laquelle les globules rouges sont anormalement petits.

Anémies hémolytiques :Celles générées par une destruction accélérée des globules rouges.

Anurie :Absence d'urine dans la vessie.

Asthénie : Faiblesse générale.

Bilirubine : Pigment jaune fabriquée par la rate et modifiée par le foie.

Cardiomyopathie : Correspond à un groupe hétérogène de maladies touchant le myocarde.

Céphalée (ou mal de tête) :Symptôme subjectif se définissant comme des douleurs locales ressenties au niveau de la boîte crânienne .

Confusion :Etat pathologique caractérisé par une désorganisation de tous les processus psychiques.

Consanguinité :Un sang commun qui unit deux êtres d'une même famille.

Coproculture : Analyse bactériologique réalisé sur un prélèvement de selles.

Créatinine : Déchet métabolique éliminée principalement par les reins et excrétée dans les urines.

Détresse respiratoire : Processus durant lequel les échanges gazeux- apport de l'oxygène lors de l'inspiration et rejet du gaz carbonique lors de l'expiration.

Entérobactérie : Bactérie de la famille des Enterobacteriaceae, qui colonise le tractus intestinal.

Facteur von willebrand :Glycoprotéine indispensable à l'hémostase primaire comme médiateur principal de l'adhésion des plaquettes au sous-endothélium altéré après une brèche vasculaire.

Glomérule : Petit amas de capillaire (vaisseaux) du rein.

Glomérulonéphrite membrano-prolifératif :Ensemble très hétérogène de maladies du glomérule rénal qui ont cependant des caractéristiques histologiques communes.

Haptoglobine :Protéine présente dans le sang, une augmentation du taux d'haptoglobine dans le sang signale un syndrome inflammatoire.

Hématurie :Emission d'urine contenant du sang.

Hémoglobine :Protéine dont la principale fonction est le transport du dioxygène.

Hémolyse : Destruction des globules rouges libérant l'hémoglobine dans le plasma sanguin.

Ischémie :Insuffisance de la circulation artérielle dans un organe.

Lactate Déshydrogénase :Enzyme de la glycolyse.

Maladie cœliaque : Maladie auto-immune, caractérisée par une destruction de la paroi de l'intestin grêle.

Microangiopathie thrombotique : c'est une lésion (-pathie) caractérisée par la présence de thrombus multiples localisés sur les petits (micro-) vaisseaux (angio-). - maladie touchant les vaisseaux sanguins de très petite taille.

Œdème cérébral : Accumulation inhabituelle de liquide dans les tissus du cerveau.

Oligurie :Production anormalement basse d'urine par l'organisme.

Pâleur cutanéux muqueuse : Pâleur au niveau des conjonctives.

Post partum : Période débute après l'accouchement.

Protéinurie :Présence de protéine dans l'urine, qu'elle soit physiologique ou pathologique.

Purpura Thrombotique Thrombocytopénique (PTT) :purpura « lésion hémorragique », Thrombotique « agrégation plaquettaire ».

Réticulocytes : Précurseurs des globules rouges.

Schizocyte : (*schizo = partage*) désignent des fragments de globules rouges.

Shigatoxine : poison produit par la bactérie *E. coli* et causant une diarrhée grave.

Syndrome Hémolytique et Urémique (SHU) : « Hémolytique » signifie la séparation du sang. « Urémique » signifie qu'il y a de l'urée dans le sang.

Syndrome néphrotique : Résultante d'une atteinte des capillaires glomérulaires.

Test de Coombs : Test sanguin, permet de révéler la présence des anticorps contre les globules rouges.

Thrombopénie : Un chiffre de plaquettes inférieur à 150 000/mm³.

Thrombus : Amas de plaquettes qui se sont agrégées entre elles grâce au processus de la coagulation .

Urée : ou carbamide est un composé organique de formule chimique CO(NH₂)₂. Constitue environ 90 % de l'azote urinaire chez l'adulte. Son dosage urinaire ou sanguin permet d'examiner une augmentation qui traduit généralement une altération des reins.

LAROUSSE MEDICALE, 2013

Table des matières

Index des tableaux	
Index des figures	
Liste des abréviations	
Résumé	
Introduction.....	1
 CHAPITRE I : Généralité sur les Microangiopathies Thrombotiques	
I.1.Historique.....	3
I.2.Définition.....	3
I.3. Etiologie.....	3
I.3.1. Génétique et immunologique.....	3
I.3.2. Microbiologique.....	4
I.3.3. Enzymatique.....	4
I.4. Caractéristiques anatomo-pathologiques.....	5
I. 5. Caractéristiques clinico-biologiques.....	5
I.6. Données épidémiologiques.....	8
I.7. Physiopathologie	9
I.7.1. Physiopathologie du Syndrome Hémolytique et Urémique atypique.....	9
I.7.2 Physiopathologie du syndrome hémolytique et urémique typique.....	13
I.7.3. Physiopathologie du Purpura Thrombotique Thrombocytopénique.....	13
I.8.Démarche diagnostique	14
I.8.1. Examen biochimique	14
I.8.2. Examen immunologique	14
I.8.3.Examen bactériologique.....	15
I.9. Traitement.....	16

CHAPITRE II : Matériel et méthodes

II.1. Matériel biologique.....	17
Matériel non biologique voir annexe	
II.2. Méthodes.....	17
II.2.1. Etude de l'activité d'ADAMTS-13 par l'ELISA.....	17
II.2.2. Dosage des fractions C3 et C4 par la néphélométrie laser.....	20
II.2.3. Dosage des fractions FB, FH et FI par l'immunodiffusion radial.....	20

CHAPITRE III : Résultats et discussion

III.1. Caractéristiques générales de la population.....	22
III.1.1. Répartition des patients en fonction du sexe.....	23
III.1.2. Répartirions des patients en fonction des classes d'âge.....	24
III.1.3. Répartition des patients en fonction de l'âge de la première crise.....	25
III.1.4. Répartition des patients en fonction des services de provenance	26
III.1.5. Répartition des patients en fonction de l'antécédent familial.....	27
III.1.6. Répartition des patients en fonction de la consanguinité.....	28
III.1.7. Répartition de la fonction de la symptomatologie.....	29
III.1.8. Répartition des patients en fonction du taux de la mortalité.....	33
III.1.9. Répartition des patients en fonction de l'antécédent personnel.....	34
III.2. Etude de l'activité d'ADAMTS-13.....	35
III.3. Exploration du système de complément.....	36
III.3.1. Hypocomplémentémie.....	37
A. Hypocomplémentémie touchant C3.....	38
B. Hypocomplémentémie avec C3 normal.....	43
III.3.2. Hyper ou Normo complémentémie.....	44

Conclusion.....47

Références bibliographiques

Annexes

Index des tableaux

N°	Titre	Page
	Tableau I : Représentation schématique des principales différences entre SHU et PTT.....	8
	Tableau II :Récapitulation des formes cliniques des MAT.....	16
	Tableau III : Description des produits fournis par (TECHNOZYM®).....	Annexe - 2
	Tableau IV :Description du produit fournis par (BINDING SITE).....	Annexe - 2
	Tableau V :Les différents volumes des réactifs déposés dans la cuvette.....	Annexe - 2
	du Néphélomètre (MININEPH™)	
	Tableau VI : Description des produits de l'immunodiffusion fournis par.....	Annexe- 2
	(BENDINGSITE)	
	Tableau VII :Résultats de référence de l'ELISA.....	Annexe -4
	Tableau VIII :Résultats de référence de la Néphélométrie laser.....	Annexe -4
	Tableau IX :Résultats de référence de l'immunodiffusion radial.....	Annexe - 4
	Tableau X :Les résultats bruts.....	Annexe - 4

Index des figures

N°	Titre	Page
	Figure 1 : Rôle de l'agression endothélial dans le développement de la.....4 Microangiopathie thrombotique	
	Figure 2: Coupe histologique du rein dans les MAT.....5	
	Figure 3: SHU etPTT, même entité à expression clinique variable.....6	
	Figure 4: Frottis sanguin mettant en évidence la présence de nombreux Schizocytes..... 7	
	Figure 5: Le SHUa une pathologie multifactorielle complexe.....10	
	Figure 6: Représentation schématique de l'activation du complément et de.....12 ses fonctions	
	Figure 7: Mécanisme physiopathologiques aboutissant à la formation de microthrombi.....13 dans le SHU typique (A) et le SHU atypique (B).	
	Figure 8 : Mécanismes physiopathologiques aboutissant à la formation de..... 14 microthrombi dans le PTT	
	Figure 9: Diagnostic différentiel des MAT: SHUa, PTT et SHU-STEC15	
	Figure 10: Principe de test d'ADAMTS-13.....18	
	Figure 11: Répartitiondes patients enfonction du sexe.....23	
	Figure 12: Répartitiondes patients en fonction des classes d'âge.....24	
	Figure 13: Répartitiondes patients enfonction de la première crise.....25	
	Figure 14: Répartirionsdes patients en fonction du service de provenance.....26	
	Figure 15: Répartition des patients enfonction de l'antécédent familial.....27	
	Figure 16: Répartition des patients en fonction de la consanguinité.....28	
	Figure 17: Répartition des patients en fonction des caractéristiques cliniques.....29	
	Figure 18: Répartition des patients en fonction des caractéristiques biologiques.....32	
	Figure 19: Répartition des patients en en fonction du taux de la mortalité.....33	

Figure 20: Répartition des patients en fonction deL'antécédent personnel.....	34
Figure 21: Répartition des patients en fonction du taux de l'activité d'ADAMTS-13.....	36
Figure 22: Répartition des patients en fonction des résultats globaux.....	37
Figure 23: Répartition des patients en fonction d'une hypocomplémentémie.....	38
touchantC3	
Figure 24: Répartition des patients avec C4 diminué ou élevé.....	39
Figure 25: Répartition des patients en fonction des différentes fractions de la voie alterne...41	
avec un C3 diminué	
Figure 26: Répartition des patients en fonction des différentes fractions de la voie alterne...43	
avec un C3 normal	
Figure 27 : Schéma récapitulatif de la démarche diagnostique.....	46
Figure 28 : Appareil Néphélométrie laser	Annexe - 1
Figure 29 : Centrifugeuse.....	Annexe - 1
Figure 30 : Agitateur.....	Annexe - 1
Figure 31 : Les prélèvements sanguins de nos patients.....	Annexe - 1
Figure 32 : La micropipette électronique de la NININEPH.....	Annexe - 1
Figure 33 : Le coffret de dosage de la protéine C3 /C4 Humaines sur MININEH™	Annexe - 1
Figure 34 : La courbe de calibration d'ADAMTS13.....	Annexe - 2
Figure 35 : Exemple d'une Fiche médicale.....	Annexe - 3
Figure 36 : Fiche de renseignement.....	Annexe -3
Figure 37 : Fiche de renseignement de l'exploration de l'ADAMTS-13.....	Annexe -3
de laboratoire	
Figure 38 : Fiche des résultats d'exploration de système du complément.....	Annexe - 3
Figure 39 : Fiche des résultats de l'exploration de l'activité d'ADAMTS13.....	Annexe - 3

Résumé

Introduction

I.1. Historique

En 1925, Moschowitz décrit un syndrome nouveau chez une jeune fille de seize ans, associant une anémie hémolytique, un syndrome hémorragique, des signes neurologiques et une insuffisance rénale (**Moschowitz, 1925**).

En 1950, la description de ce syndrome s'uniformise sous le nom de Purpura Thrombotique Thrombocytopénique (PTT).

Puis, en 1955 Gasser décrit un tableau similaire chez un enfant, mais où prédomine l'insuffisance rénale, qu'il désigne sous le nom du Syndrome Hémolytique et Urémique (SHU) (**Gasser et al, 1955**).

I.2. Définition

Le terme de Microangiopathie Thrombotique (MAT) définit une entité histologique, avec une traduction biologique caractéristique et commune à plusieurs syndromes cliniques connus sous les termes des SHU et de PTT (**Besbas et al., 2006**).

Les MAT sont caractérisés par des lésions anatomo-pathologiques identiques, ils partagent souvent les mêmes présentations cliniques. Mais, diffèrent dans la cause sous-jacente et dans leur prise en charge thérapeutique (**Moake, 2002 ; Sadler et al., 2004**).

I.3. Etiologie

La compréhension de la pathologie moléculaire a conduit à la constatation que ces pathologies sont dues à une agression de l'endothélium vasculaire (**Peigne et al., 2012**).

Cette agression est causée par plusieurs mécanismes qui se répartissent comme suit :

I.3.1. Génétique, Immunologique

Le SHU atypique, résulte à des troubles génétiques ou acquis au niveau des composants de la régulation de la voie alterne du système du complément (**Kerr et Richard, 2012**).

I.3.2.Microbiologique

Le SHU typique post-diarrhéique ou SHU Shiga-like Toxin-producing Escherichia coli (SHU STEC), est causé par une toxine bactérienne Shiga Toxine (Stx) produite par certaines entérobactéries (E.coli de Sérotype classique 0157 : H7), souvent dans un contexte épidémique lié à des contaminations dans la filière agroalimentaire (**Blaser, 2012**).

I.3.3.Enzymatique

Le PTT, est lié à un déficit de la protéase de clivage des multimères de haut poids moléculaire du facteur de von Willebrand (vWF) appelée ADAMTS-13 (**Coppo et Veyradier, 2012**). Ce déficit est dû à :

- ❖ Anomalie génétique : mutations du gène d'ADAMTS13 (< 5 % des cas) et qui affectant les rares formes pédiatriques principalement.
- ❖ Anomalie acquise : secondaire à la présence des auto anticorps dirigés contre l'ADAMTS13 (> 95 % des cas) et qui correspond aux formes de l'adulte (**Sadler, 2004**).

L'agression endothéliale est l'évènement initiateur des MAT qui aboutit à la formation de thrombi entraînant une fragmentation érythrocytaire (**Bahloul et al., 2007**).

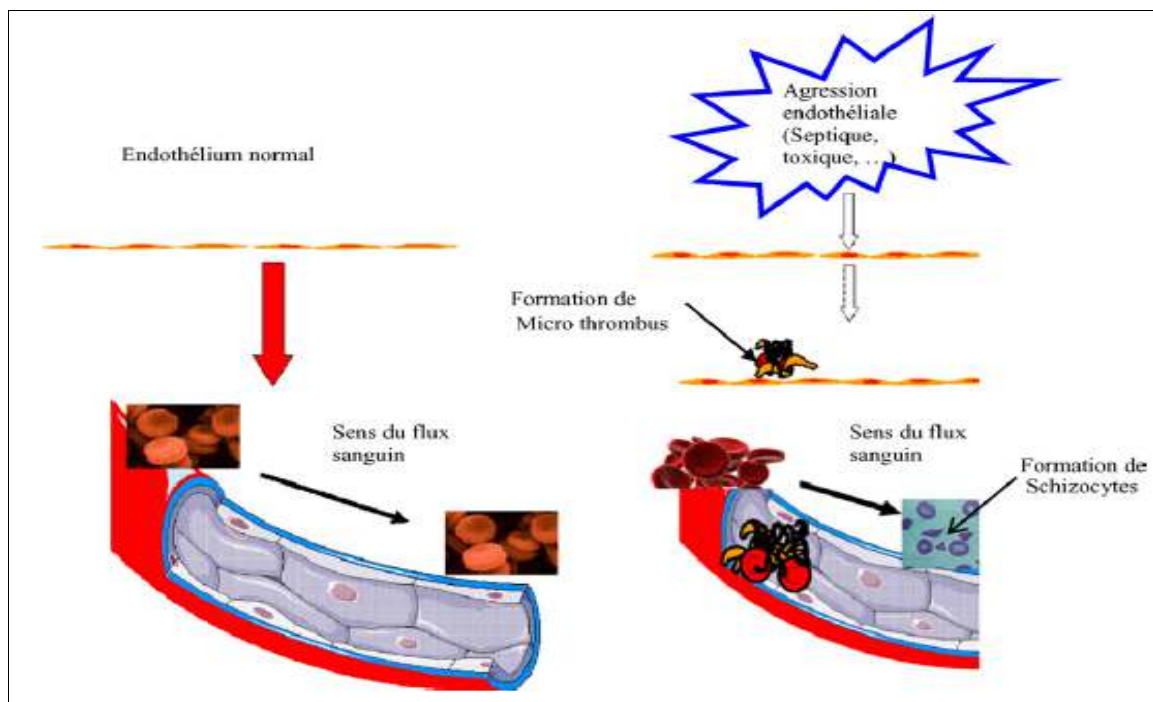


Figure 1: Rôle de l'agression endothéliale dans le développement de la Microangiopathie thrombotique (**Bahloul et al., 2007**).

I.4. Caractéristiques anatomo – pathologiques

Les syndromes de MAT sont définis histologiquement par la présence de thrombi au niveau des artérioles terminales et des capillaires (Figure 2), responsables d'une souffrance viscérale de sévérité variable (Noris et Remuzzi, 2005).

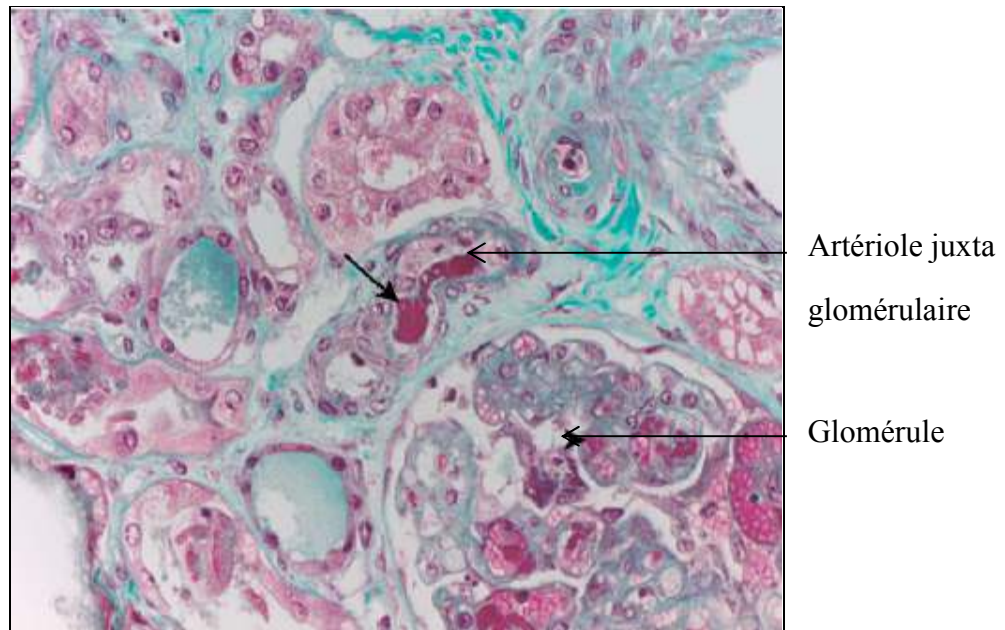


Figure 2: Coupe histologique du rein dans les MAT.

L'artériole juxta glomérulaire, au centre de l'image, est occupée par un thrombus (flèche)

(Loirat, 2013).

I.5. Caractéristiques clinico-biologiques

Sur le plan clinique, durant de nombreuses années, la distinction entre les différents types de MAT a été fondée uniquement sur la clinique et l'épidémiologie ; prédominance de l'atteinte neurologique pour le PTT et prédominance de l'atteinte rénale pour le SHU (Rock et al., 1991).

Les présentations rénales ou neurologiques déterminent respectivement les entités cliniques de SHU et de PTT (Voir Figure 3).

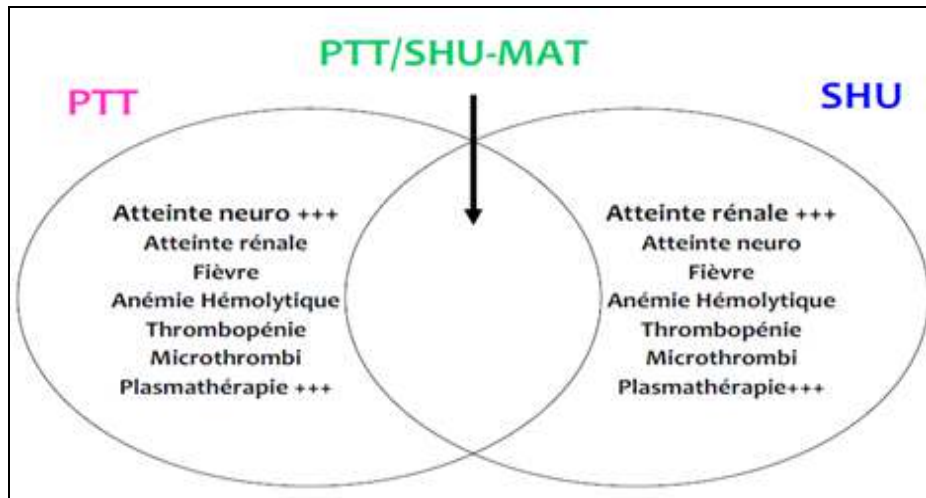


Figure 3: SHU et PTT, même entité à expression clinique variable (Remuzzi, 1987).

En réalité ces anomalies peuvent toucher tous les organes vitaux avec des fréquences variables d'un organe à un autre :

- ❖ **Atteinte rénale :** Elle est présente dans 50 à 90% des cas de SHUa ; 70 à 90% des cas de SHU associée à *E. coli*. En cas de PTT, elle est en règle modérée.

Elle peut se résumer à une protéinurie, une hématurie microscopique ou macroscopique et une oligurie. Elle est généralement plus fréquente et plus sévère dans les SHU que dans le PTT(Gould et al., 2005).

- ❖ **Atteinte neurologique :** représentent 88% des cas de PTT. Mais, il peut aussi se voir dans 55% des cas de SHU associées à *E. coli* et entre 10 à 74% des cas de SHUa.

Elle est caractérisée par une atteinte de la conscience allant d'une confusion jusqu'au coma, les convulsions (Nathanson et al., 2010).

- ❖ **Atteinte gastrique :** sont observés chez 11 à 14% des cas variés dans l'ensemble des MAT. Dont, la diarrhée représente un signe de SHU associées à *E.coli*. Cependant, 30% des cas de SHUa ayant ce signe (Zuber et al., 1997).

Elle se manifeste par des douleurs abdominales et parfois des diarrhées sanglantes. Elle peut se compliquer de perforation digestive.

- ❖ **Atteinte cardiaque :** Elle peut être rencontrée essentiellement dans le PTT.

Il s'agit souvent de douleurs thoraciques, une cardiomyopathie est exceptionnel surtout dans le SHU.

- ❖ **Atteinte Pulmonaire :** c'est une localisation rare elle se manifeste le plus souvent, à un syndrome de détresse respiratoire aigüe(De Byus Roessingh et al., 2007).

La caractéristique principale de ce type d'affection représente une hétérogénéité symptomatologique commune qui apparaît dans une grande similitude de la présentation clinique avec des fréquences variables concernant les organes d'une pathologie à une autre (**Frémeaux-Bacchi et al., 2011**).

Sur la plan biologique, L'hémolyse est caractérisés par :

- Une anémie de type mécanique due à la formation de microthrombi qui réduit le calibre des capillaires de la microcirculation. En traversant ces vaisseaux endommagés les globules rouges sont traumatisés et fragmentés, formant des Schizocytes ;
- La présence des Schizocytes sur le frottis sanguin (Figure 4) ;
- Taux de réticulocytes élevés ;
- Taux de LDH élevé ;
- Haptoglobine effondrée ;
- Test de Coombs négative qui élimine une anémie auto-immune. Sauf le SHU de pneumocoque (**Copelovitch et Kaplan, 2008**) ;
- Thrombopénie périphérique liées à la consommation des plaquettes par les thrombi.

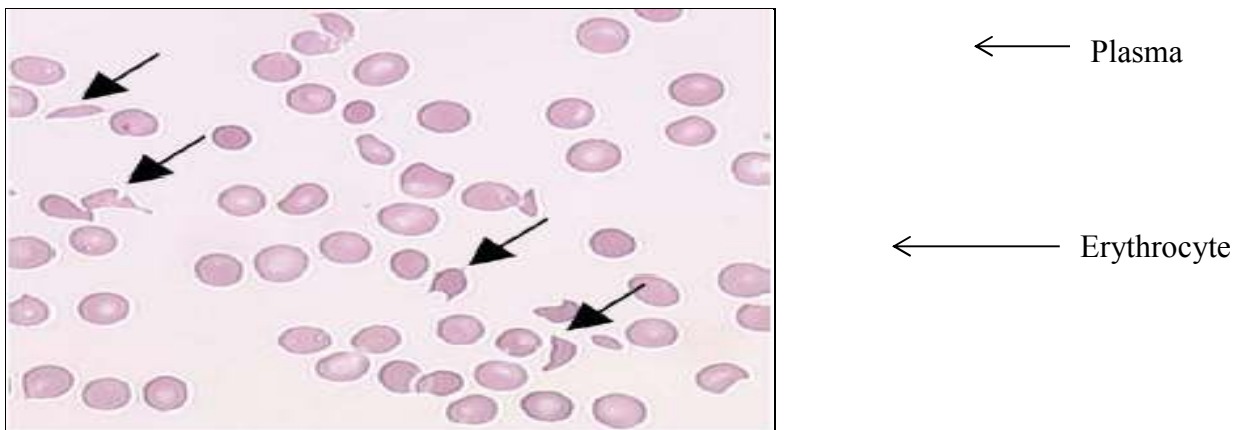


Figure 4: Frottis sanguin mettant en évidence la présence de nombreux Schizocytes (flèches)
(**Coppo et Veyradier, 2005**)

Sur le plan pratique, Le tableau suivant représente les principales différences entre SHU et PTT.

Tableau I: Représentation schématique des principales différences entre SHU et PTT
(Bahloul et al., 2007).

Paramètres	PTT	SHU
Atteinte rénale	±	+++
Anémie	+++	++
Thrombopénie (%)	100	50 à 60 au début
Haptoglobine	Diminuée	Diminuée
Fer sérique	Augmenté	Augmenté
LDH	Augmentée	Augmentée
Bilirubine	Augmentée	Augmentée
Fibrinogène	Normal	Normal
HTA	±	++
Atteinte neurologique	+++	±
Fièvre	++	±
Purpura	++	±

I.6. Données épidémiologiques

Ces pathologies sont très peu connues par les cliniciens d'où l'absence d'études épidémiologiques. Ceci a incité les chercheurs à approfondir leurs connaissances dans ce domaine. De ce fait ces dernières années, on constate une avancée concernant la maîtrise de ces MAT pour une meilleure prise en charge thérapeutique.

Les résultats de ces données sont très disparates et ont montré que l'incidence de ces affections varie de 6 à 8 cas par million d'habitants/ans pour l'ensemble de ces pathologies (Moulinier et al, 2013).

- Pour Le SHU atypique, il représente 10 à 15% des SHU. C'est une pathologie rare dont l'incidence annuelle est estimée autour de 0,2 à 2 cas/millions d'habitants, Il survient à tout âge (Frémeaux-Bacchi et al., 2011).
- Concernant le SHU typique, il représente 90% des SHU. Son incidence est estimée à 2,1 cas sur 100 000 personnes par ans, il est noté chez les enfants (Tarr et al., 2005).
- Quant au le PTT, d'incidence annuelle estimée à 3,7 cas pour 1 000 000 d'habitants, Il survient préférentiellement chez les femmes (Coppo et al.,2014).

I.7. Physiopathologie

Au cours de ces trois pathologies, Les mécanismes physiopathologiques aboutissent à une activation des CE qui libèrent dans le plasma des substances proagrégantes augmentant l'agrégabilité des plaquettes et la formation de microthrombi dans la microcirculation **(Moake, 2002 ;Bahloul et al,2007)**.

Schématiquement, quatre phases intervenant dans la survenue des lésions de MAT :

- Lésion de l'endothélium vasculaire ;
- Adhésion de thrombi fibrino plaquettaire ;
- Diminution de l'activité fibrinolytique ;
- Hémolyse et formation de schizocyte.

Notre travail a porté essentiellement sur le SHUa d'où la nécessité de détailler la physiopathologie de ce dernier.

I.7.1. Physiopathologie du Syndrome Hémolytique Urémique atypique

Pour éviter d'endommager les tissus autologues intacts, la cascade du complément est très étroitement réglementée (Figure 6) par la phase fluide (facteur H, facteur I) et des facteurs liés à la membrane (CD46/MCP).

Une dérégulation de la voie alterne due à (Voir figure 5), aboutit à des dépôts excessifs de complément à la surface de l'endothélium vasculaire insuffisamment protégé **(Karpman et al., 2010)**.

a) Facteurs intervenant dans la genèse de SHUa

Le SHUa est une pathologie multifactorielle. La figure 5 représente les facteurs intervenant dans la genèse de SHUa.

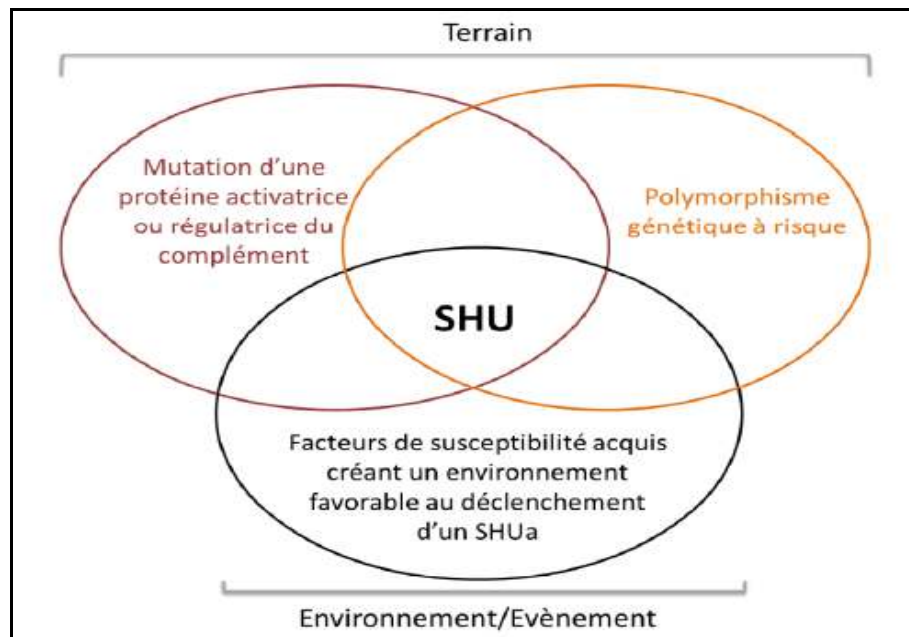


Figure 5: Le SHUa une pathologie multifactorielle complexe (Frimat, 2013)

➤ Facteurs génétiques de susceptibilité au SHUa : mutation et/ou polymorphisme

En fonction de leurs conséquences quantitatives ou qualitatives, les mutations sont classées en deux groupes :

- ❖ Les mutations de type 1 : qui aboutissent à un défaut de sécrétion de la protéine, dans ce cas la protéine est indosable.
- ❖ Les mutations de type 2 : qui sont responsables d'anomalies fonctionnelles de la protéine, sans induire de diminution de leur concentration plasmatique.

Il est admis que le risque de développer la maladie est aussi lié à la présence des polymorphismes (Frimat, 2013).

➤ Environnement/Évènement : facteurs acquis de susceptibilité au SHUa.

C'est les facteurs déclenchant, qu'ils soient direct (infection virale ou bactérienne), ou indirect (médicament, maladie systémique causant des lésions endothéliale), peuvent précipiter une poussée aigue sur ce terrain génétique prédisposé (Caprioli et al., 2006 ; Noris et al., 2010).

La grossesse et le post-partum semblent, tout particulièrement créer un environnement à haut risque de MAT (Noris et Remuzzi,2009 ; Fakhouri et *al.*,2010).

b) Rappel sur le système du complément

C'est un ensemble de protéines à synthèse hépatique sous forme circulante dans le plasma et sous forme de récepteurs membranaires présents à la surface de nombreux types cellulaires (Frémeaux-Bacchi et *al.*, 2012).

La voie classique, alterne et celles des lectines ; sont les trois voies pouvant être activées par des composants qui leur sont spécifiques(Frémeaux-Bacchi et *al.*, 2003).

Ces trois voies d'activation convergent vers la protéine centrale du système du complément, appelée C3(Frémeaux-Bacchi, 2008).

C) Voies d'activation du Complément

- **La voie classique**

Elle est déclenchée par la liaison du complexe C1, aux complexes antigènes-anticorps (une molécule d'IgM seule suffit pour initier la voie, tandis que qu'au moins deux d'IgG sont nécessaires pour le faire).

- **La voie des lectines**

Elle est initiée lorsque la protéine plasmatique MBL (MannanBindingLectin) se lie au groupe mannose présent à la surface des cellules microbienne.

- **La voie alterne**

Elle est initiée par l'hydrolyse spontanée du C3, Elle est activée en permanence à un niveau faible. Cette voie s'active directement sur les surfaces microbiennes, ce qui conduit à la génération d'une boucle d'amplification (Frémeaux-Bacchi et *al.*, 2012).

La Figure 6 récapitule les voies d'activation du complément et ses activateurs.

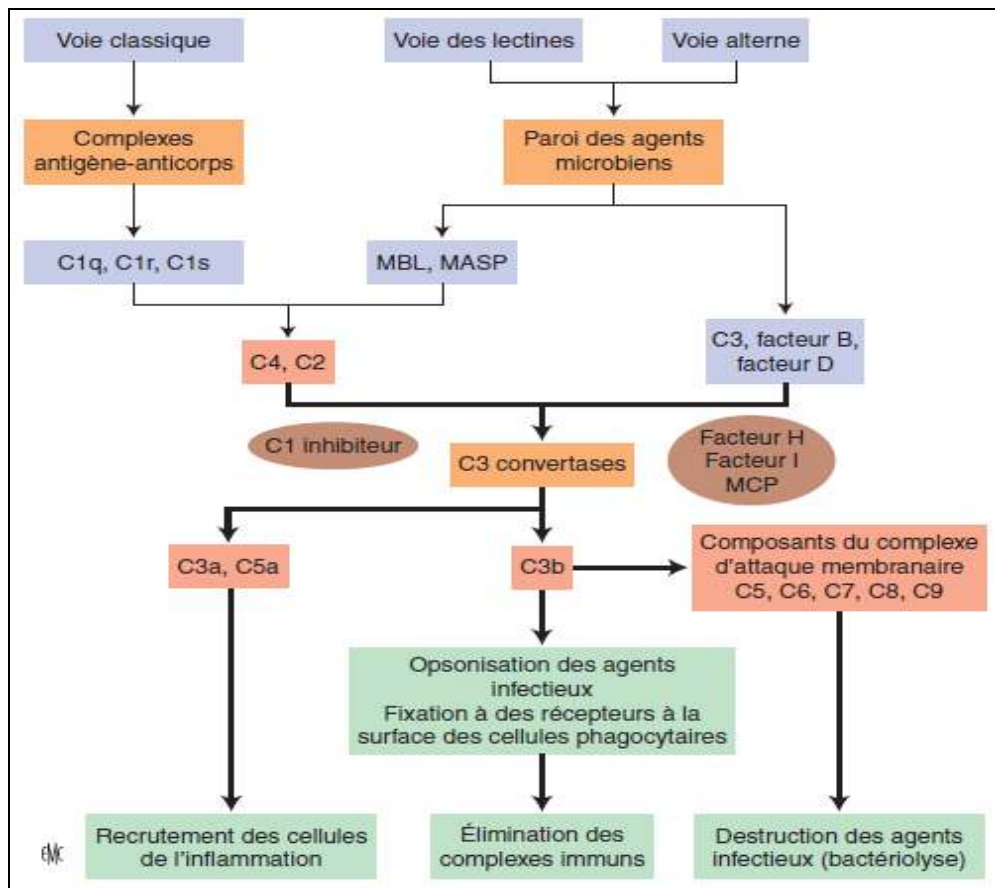


Figure 6: Représentation schématique de l'activation du complément et de ses fonctions (Rickelin et al., 2010).

- **Voie finale commune**

Les trois voies se rejoignent au niveau de la voie finale commune pour former le complexe lytique C5b-9.

d) Voie alterne du complément et physiopathologie de SHUa

Chez l'enfant comme chez l'adulte, le SHU atypique est associé dans plus de 60% des cas à des mutations dans les gènes codant pour le C3 et le FB formant la C3 convertase alterne et pour les protéines qui la régule (FH, FI et CD46) et dans 10% des cas à un anticorps anti-facteur H (Noris et al., 2010) (Voir la figure7 - B).

I.7.2. Physiopathologie de Syndrome Hémolytique et Urémique typique

Les Stx libérées dans la lumière du tube digestif traversent la bordure en brosse et sont transportées par les polynucléaires neutrophiles jusqu'aux cellules endothéliales (Figure 7-A).

Ces Stx entraînent l'activation des CE et par l'intermédiaire de cytokines inflammatoire et du tumor necrosis factor- α (TNF- α). Les C.E activé expriment à leur surface de FvW de haut poids moléculaire et du facteur tissulaire (FT), à l'origine de la formation de microthrombi (Loirat *et al.*, 2012).

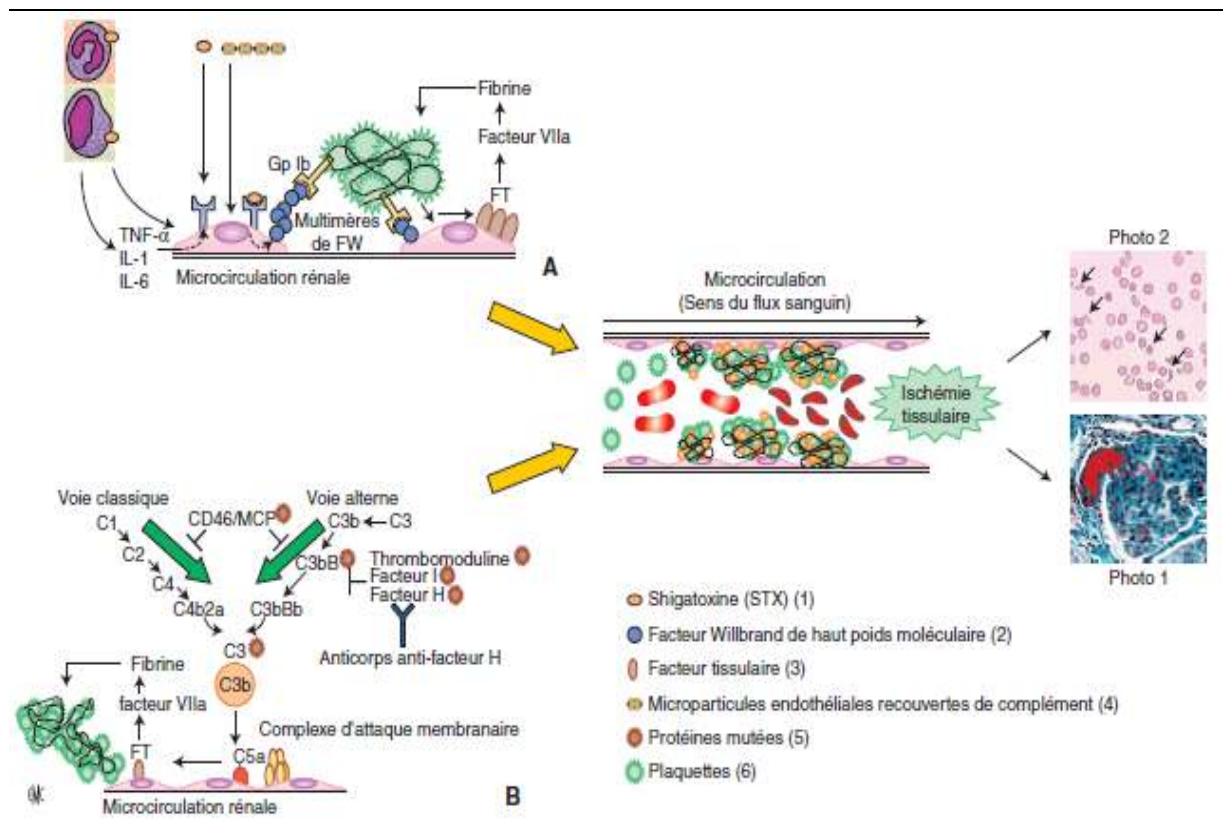


Figure 7: Mécanisme physiopathologiques aboutissant à la formation de microthrombi dans le SHU typique (A) et le SHU atypique (B) (Delmas *et al.*, 2013).

I.7.3. Physiopathologie de Purpura Thrombotique Thrombocytopénique

Dans un contexte de déficit sévère en ADAMTS-13, les mégamultimères de FW qui sert à l'adhésion des plaquettes sur l'endothélium vasculaire s'accumulent et favorisent la formation de microthrombi dans les capillaires de différents organes comme le cerveau, le rein ou le tube digestif (Figure 8). Ces microthrombi sont responsables d'une ischémie tissulaire et d'une fragmentation des érythrocytes, générant des Schizocytes (Coppo *et al.*, 2014).

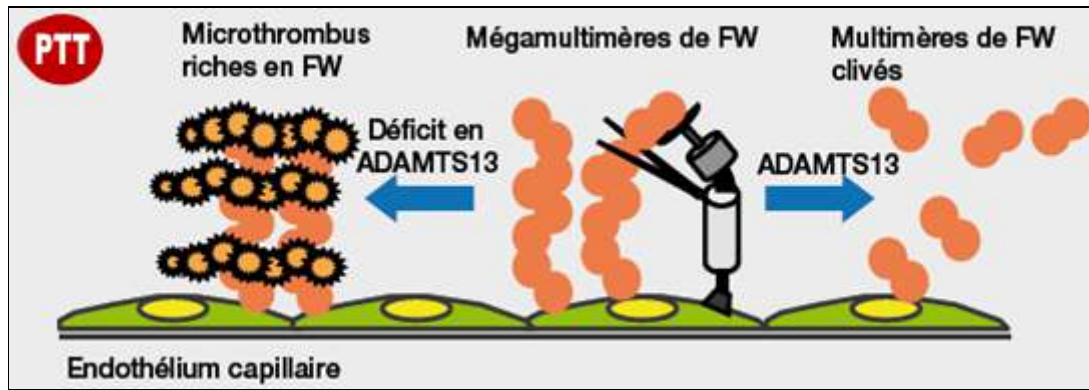


Figure 8: Mécanismes physiopathologiques aboutissant à la formation de microthrombi dans le PTT (Moulinier *et al.*, 2013).

Le présent travail n'a porté que sur une seule pathologie des MAT qui est le SHUa.

I.8. Démarche diagnostique

I.8.1. Examen biochimique

Le test de l'activité d'ADAMTS-13 peut être utilisé pour différencier le SHUa de PTT :

Les patients atteints de PTT ont une forte réduction de l'activité d'ADAMTS13 inférieur à 5% (Bianchi *et al.*, 2002 ; Tsai, 2010). Les normes diffèrent d'un pays à un autre.

I.8.2. Examen immunologique

Le dosage des composants C3 et C4 du complément, et l'étude du complément hémolytique 50 peuvent permettre de mettre en évidence une diminution isolée du C3 signant une anomalie de la voie alterne (Augusto *et al.*, 2012).

La fraction C4 en effet la plus part des états sont due à l'activation de la voie classique. Le dosage de C4 est utile pour exclure une activation de la voie classique et n'ont pas de poser le diagnostic de SHUa (Delmas *et al.*, 2013).

Le diagnostic de SHU atypique doit motiver le dosage des fractions de la voie alterne FH, FI et du FB, mais aussi une étude de l'expression de MCP à la surface des leucocytes et une recherche d'anticorps anti-facteur H. Un déficit quantitatif est retrouvé dans environ 30% des cas justifiant une recherche systématique de mutations au niveau des gènes du facteur H, du facteur I, de CD46/MCP, C3 et du facteur B (Rosain *et al.*, 2014).

I.8.3. Examen bactériologique

La souche bactérienne *E. coli* O157:H7 sera recherchée, ainsi que les shigatoxines type 1 et 2. La positivité des examens bactériologiques (Test de STEC) peut être utilisée pour indiquer que le patient a un SHU- STEC (Bitzan *et al.*, 2010).

La figure 9 représente les différentes démarches diagnostiques des 3 affections des MAT.

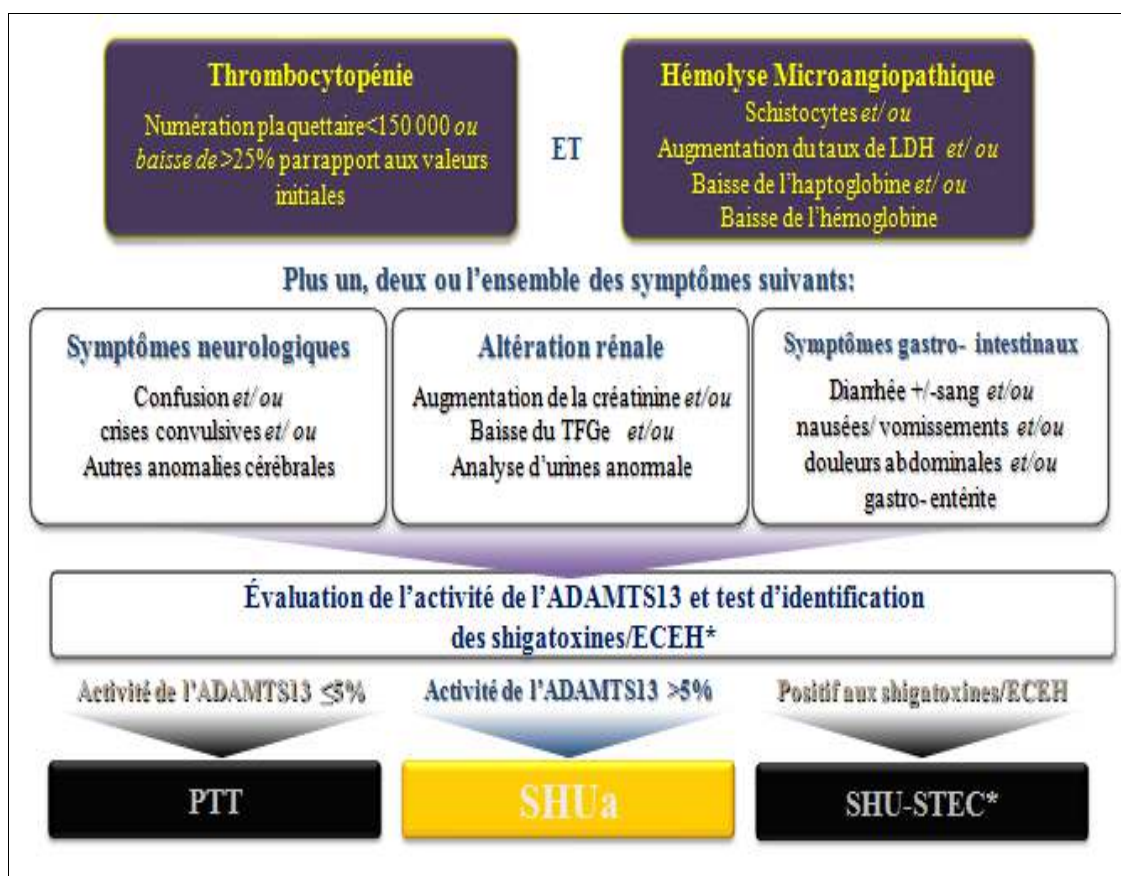


Figure 9: Diagnostic différentiel des MAT: SHUa, PTT et SHU-STECS (Bitzan *et al.*, 2010).

Le tableau II récapitule les différentes caractéristiques des formes cliniques des MAT.

Tableau II: Récapitulation des formes cliniques des MAT (**Garday et al., 2013**).

	SHU atypique	SHU STEC+	PTT
Terrain	Tout âge	Enfant	Femme 40 ans
Clinique	HTA Oligurie Recherche d'une souffrance multisystémique (neurologique, cardiaque...)	Diarrhée glairosanglante (STEC+) HTA Oligurie Recherche d'une souffrance multisystémique (neurologique, cardiaque...)	Fièvre Atteinte neurologique brutale et fugace Recherche autres manifestations (digestives, cardiaques)
Examens complémentaires	Anémie hémolytique Thrombopénie souvent < 30 g/l Insuffisance rénale Anomalies de la voie alterne du complément	Anémie hémolytique Thrombopénie souvent < 30 g/l Insuffisance rénale L'analyse bactériologique des selles et l'écouvillonnage nasal retrouvent une shigatoxine	Anémie hémolytique Thrombopénie profonde (< 30 g/l) Insuffisance rénale Bilan infectieux Sérologie VIH ECG
ADAMTS13	Activité détectable	Activité détectable	Déficit sévère

L'objectif de notre étude est de faire :

- ❖ L'étude des variations de système du complément dans le SHUa. Pour se faire on doit réaliser le dosage de l'activité d'ADAMTS-13 afin d'éliminer le PTT.

Nous avons effectué notre étude au niveau du laboratoire de Biochimie des Antigènes et Anticorps Monoclonaux au sein du service d'Immunologie de l'Institut Pasteur Dely Ibrahim, d'Alger. Durant une période de 3 mois (du mois de février au mois de mai 2014).

II.1 Matériel biologique

- **Sujets étudiés**

Nous avons inclus, dans notre travail 26 échantillons sanguins de patients dont l'âge varie entre 1 mois et 47ans, présentant les principaux critères clinico-biologiques de MAT. En fonction du sexe, ces patients sont répartis en sexe masculin et féminin.

Les données de chaque patient, quand elles sont disponibles, sont rapportées sur des fiches de renseignement individuel fournissent (Voir annexe-3). Comporte les données épidémiologiques, les manifestations cliniques et biologiques, le service hospitalier, ainsi que les antécédents personnels et familiaux du patient.

Nos manipulations ont été effectuées avec du plasma humain comme échantillon dans la technique d'ELISA et dans la néphélométrie laser, et avec du sérum humain dans l'immunodiffusion radial (Se référer à l'annexe - 2).

Après le prélèvement du sang, le sérum et le plasma sont séparés du culot globulaires par la centrifugation à 2000G pendant 10 minutes à + 4°C.

II.2 Matériel non biologique

II.3 Méthode

L'annexe comporte le détail du mode opératoire de chaque technique selon les kits des fournisseurs (Voir annexe - 2) et les résultats de référence du laboratoire (Voir annexe - 4).

II.3.1. Etude de l'activité d'ADAMTS-13 par ELISA

- Une baisse de l'activité d'ADAMTS-13 permet de confirmer le diagnostic de PTT.

- **Principe**

ADAMTS-13 Activity ELISA est un test chromogénique pour la détermination de l'activité ADAMTS-13 dans le plasma humain. L'ADAMTS-13 est une protéase spécifique du facteur von Willebrand (vWF) qui clive spécifiquement et réduit la taille anormalement grande des multimères du vWF, lesquels permettent la formation d'agrégats plaquettaires dans la microcirculation où les forces de cisaillement sont élevées.

Le principe du test est représenté dans la figure ci-dessous.

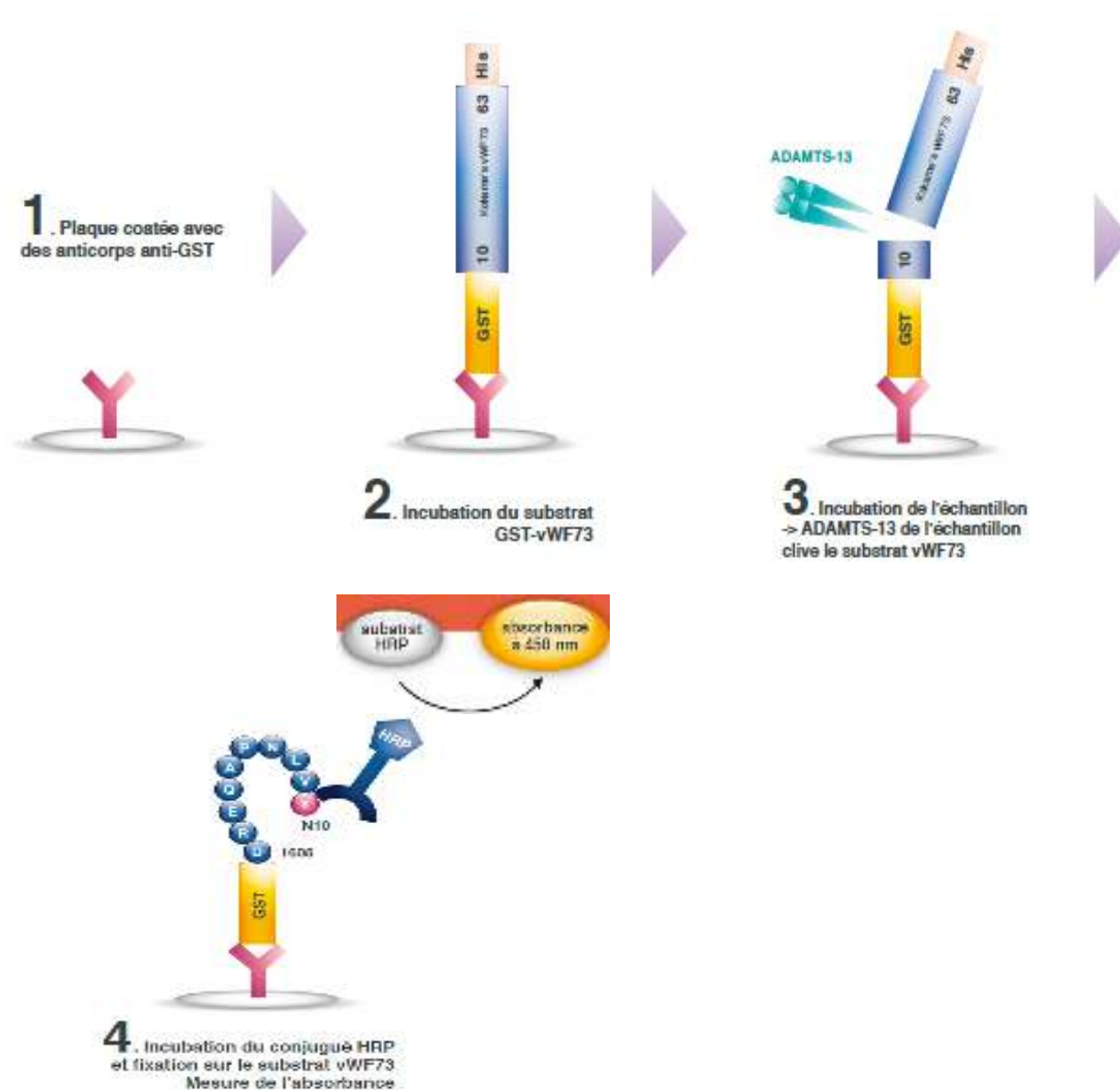


Figure 10: Principe du test d'ADAMTS-13 (Kit de TECHNOZYM™).

- **Mode opératoire**

- Nous ajoutons 100µl de la solution de substrat GST- v WF 73 dans chaque puits des barrettes recouvertes d'anti-GST.
- Nous laissons les barrettes incubées à température ambiante pendant 60 minutes.
- Après cette incubation, Nous effectuons 3 lavages successifs avec le tampon de lavage (3 x 300 µl).
- Puis, nous ajoutons 100 µl des calibrateurs, contrôles et échantillons dilués dans chaque puits.
- Nous laissons les barrettes incubées à température ambiante pendant 30 minutes.
- Après cette incubation des échantillons, Nous effectuons 3 lavages successifs avec le tampon de lavage (3 x 300 µl).
- Nous ajoutons 100 µl de solution de conjugué dans chaque puits.
- Nous laissons les barrettes incubées à température ambiante pendant 60 minutes.
- Après l'incubation du conjugué, Nous effectuons 3 lavages successifs avec le tampon de lavage (3 x 300 µl)
- Nous ajoutons 100µl de la solution de TMB (Tétréméthylbenzidine) dans chaque puits.
- Nous laissons les barrettes incubées à température ambiante pendant 30 minutes.
- Nous ajoutons 100 µl de l'acide sulfurique dans chaque puits.
- Nous laissons les barrettes incubées à température ambiante pendant 30 minutes.
- La lecture de la plaque d'ELISA est faite par le spectrophotomètre à 450 nm.
- A partir d'une courbe d'étalonnage avec en abscisse le pourcentage de l'activité de l'ADAMTS-13 (%) et en ordonnée la D.O mesurée à une longueur d'onde de 450 nm des 6 calibrateurs (Annexe - 2). L'activité de l'ADAMTS-13 de l'échantillon est obtenue par extrapolation du D.O mesurée sur la courbe.

II.3.2. Dosage des fractions C3 et C4 du complément par la néphélométrie Laser

- La diminution de C3 avec un C4 normal est fortement évocatrice d'une activation de la voie alterne, situation souvent rencontrée chez les patients atteints du SHUa.

- **Principe**

Le principe de la technique est basé sur l'immunoprécipitation en milieu liquide de complexes immuns afin de déterminer la concentration d'un Ag soluble.

La détermination de la concentration de ce dernier repose sur la formation d'un complexe insoluble en présence d'Ac spécifique.

Un faisceau lumineux traverse la cuvette de la réaction à l'intérieur de laquelle se forment les complexes insolubles. La proportion de lumière diffractée est analysée en un temps fixé et est directement proportionnelle à la quantité de protéine recherchée.

- **Mode opératoire**

- Nous diluons les sérums des patients au 1/11^{ème} avec un tampon de réaction (Voir annexe- 2). Puis, nous déposons 40 µl de la dilution dans une cuvette contenant un barreau magnétique (voir annexe- 2).
- Nous plaçons les cuvettes dans le néphélomètre, et à l'aide d'une pipette électronique nous ajoutons 400 µl de tampon et 40 µl d'anti sérum spécifique de la fraction recherchée (anticorps anti C3 ou anti C4).
- La concentration de la fraction présente dans l'échantillon est alors indiquée sur le néphélomètre (appareil MININEPH).

II.3.3. Dosage des fractions : FH, FB et FI par l'Immunodiffusion radiale

- Une diminution du taux d'une et/ou de plusieurs fractions (FH, FB, FI) nous oriente vers le diagnostic du SHUa.

- **Principe**

Le principe repose sur la diffusion radiale des Ag à partir d'un puits cylindrique creusé dans un gel d'agarose contenant des anticorps monospécifiques.

Au cours de la diffusion, des anneaux de précipitations sont formés autour de ces puits qui correspondent à des complexes Ag-Ac, dont le diamètre est proportionnel à la concentration de l'antigène.

- **Mode opératoire**

- Nous déposons 5µl de calibrateur haut dans le nombre de puits requis de la plaque de l'Immunodiffusion radial.
- Nous ajoutons 5µl d'échantillon et de contrôle dilués. Durant les dépôts, ne pas laisser la plaque exposée à l'air libre trop longtemps, de manière à éviter un dessèchement excessif du gel.
- Après les dépôts, la plaque est hermétiquement fermée et maintenue à plat à température ambiante (approximativement 20-24°C). Au fur et à mesure le sérum diffuse dans le gel, les anticorps se lient à la protéine sérique et forment un anneau de précipitation, dont le diamètre est proportionnel à la quantité initiale des anticorps.
- La lecture est faite au bout de 72 heures d'incubation à 20°C, nous mesurons les diamètres des anneaux de précipitation à l'aide d'un papier millimétré et d'une loupe.

Chapitre III

Résultats et discussion

Conclusion

A

Augusto J.F., Subra J.F., Chevailler A. (2012). Apport de l'immunologie au diagnostic en néphrologie : actualités en 2012. *Revue Francophone des laboratoires*, 444 (2) : 63-73.

B

Bahloul M., Dammak H., Kallel H., Khlaf-Bouaziz N., Ben hamida C., Chaari A., Chelly H., Rekik N., Bouaziz M. (2007). Les microangiopathies thrombotiques. Incidence, physiopathologie et pronostic. *Journal des maladies vasculaire*, 32(4) : 75-82.

Barba T., Pasquet F., Gallay L. (2011). Microangiopathie thrombotique du postpartum. *La Revue de Médecine Interne*, 32 (1): S103.

Benz K., Amann K. (2010). Thrombotic microangiopathy: new insights. *Curr Opin Nephrol Hypertens*; 19 (3): 242-7.

Besbas N., Karpman D., Landau D., Loirat C., Proesmans W., Remuzzi G., Rizzoni G., Taylor CM., Van de Kar N., Zimmerhackl LB. (2006). A classification of hemolytic uremic syndrome and thrombotic thrombocytopenic purpura and related disorders. *Kidney Int*, 70 (3) : 423-31.

Bianchi V., Robles R., Alberio L., Furlan M., Lambe B. (2002). Von Willebrand factor-cleaving protease (ADAMTS13) in thrombotic thrombocytopenic. *Blood*, 100 (5) : 710-713.

Bitzan M., Schaefer F., Reymond D. (2010). Treatment of typical (enteropathic) hemolytic uremic syndrome. *Semin Thromb Hemost*, 36 (4): 594-610.

Blaser M.J. (2012). Deconstructing a lethal foodborne epidemic. *N Engl J Med*, 365: 1835-6.

C

Caprioli J., Noris M., Brioschi S. (2006). Genetics of HUS: the impact of MCP, CFH, and IF mutations on clinical presentation, response to treatment, and outcome. *Blood*, 108: 1267–9.

Copelovitch L., Kaplan B.S. (2008). *Streptococcus pneumoniae-associated hemolytic uremic syndrome*. *Pediatr Nephrol*, 23(11): p. 1951-6.

Coppo P., Stépanian A., Gay J., Joly B., Veyradier A., Coppo P. (2014). Purpura Thrombotique Thrombocytopénique : physiopathologie, clinique, pronostic et traitement. *Hémato-Immunologie PTT*, 37 : 17-25.

Coppo P., Veyradier A. (2005). Microangiopathies thrombotique : Physiopathologie, diagnostic et traitement, *Réanimation* (14) : 594-603.

Coppo P., Veyradier A. (2012). Microangiopathies thrombotique : référentiels hémostase/ Société française d'hématologie. *Hématologie*, 18(4) : 221-32.

D

Dalmas Y., Heritg A., Rondeau E., Frémeaux-Bacchi V., Coppo P. (2013). Syndrome Hémolytique et Urémique : physiopathologie, clinique, pronostic et traitement. *EMC-Hématologie*, 8 (4):1-8.

De Byus Roessingh A.S., de lahausie P., Baudoin V., Loirat C., Aigrain Y. (2007). Gastrointestinal complications of post-diarrhea hemolytic uremic syndrome. *Eur J Pediatr Sug*, 17: 328-34.

F

Fakhouri F., Roumenina L., Provot F.(2010).Pregnancy-associated hemolytic uremic syndrome revisited in the era of complement gene mutations. *J Am Soc Nephrol*; 21(5):859-67.

Fitzpatrick M.M., Walters MD.S. Trompeter R.S., Dillon M.J., Barratt T.H. (1993). Atypical (non- diarrhea associated) hemolytic-uremic syndrome in childhood. *J Rediatr*, 122 (4): 532-7.

Frémeaux-Bacchi V. (2008). Mutations in complement C3 predispose to development of Atypical hemolytic uremic syndrome. *Blood*, 112 (13): p 4948-52.

Frémeaux-Bacchi V., Dragon-Durey MA., Blouin J., Mouthon L., Fridman WH. (2003). Le complément en Médecine Interne. *Ann.Med.Intene*, 154 (8) : 529-540.

Frémeaux-Bacchi V., Fakhouri F., Roumenina L., Dragan-Durey MA., Loirat C. (2011). Syndrome hémolytique et urémique lié à des anomalies du complément. *La Revue de médecine interne*, 32 : 332-240.

Frémeaux-Bacchi V., Ngo S., Bordereau P., Poulain N., Roncelin S., Blouin J., Roumenina L., Dragon-Durey MA. (2012). Exploration du complément actualités : *Revue Francophone des laboratoires* N° 444 : 31-36.

Frimat M. (2013). Lésions endothéliales liées à un défaut de contrôle du complément : de la génétique du complément au syndrome hémolytique et urémique. Thèse pour obtenir le grade de docteur de l'Université, Université PARIS Descartes de SORBONE, Faculté des sciences de la vie et de la santé, p56.

G

Gardy O., Gay J., Pateron D., Coppo P. (2013). Les microangiopathies thrombotique aux urgences. *Annales Françaises de médecine d'urgence*, 3(6) : 353-362.

Gasser C., Gantier E., Steck A., Siebenmann R., Dechslin R. (1955).[Hemolytic-uremic syndrome: bilateral necrosis of the renal cortex in acute acquired hemolytic anemia].*Schweiz Med Wochenschr*, 1955. 85 : 38-39.

Gould L.H., Siegler R., Oakes R. (2005). Hemolytic; patho-genesis, traitement and outcone. *Curr opin Pediator*, 17:200–4.

K

Karpman D., Sart L., Johnson S. (2010). *Pathophysiology of typical hemolytic uremic syndrome. Semin Thromb Hemost*, 36(6): 575-85.

Kavanagh D., Goodship T. (2010). Genetics and complement in atypical HUS. *Pediatr Nephrol*.25 (5):2431–2442.

Kells A., Van Dyck M., Proesmans W. (1994). Childhood haemolytic uraemic syndrome: long-term out come and prognostic features *Eur J Pediatr*; 153(1): 38-42.

Kerr H., Richards A. (2012). Complement-mediated injury and protection of endothelium: Lessons from atypical haemolytic syndrome. *Immunobiology*, 217 (5) : 195-203.

Khellaf G., Arzour H., Gaoua H. (2011). L'insuffisance rénale aiguë du postpartum. *Néphrologie & Thérapeutique*, 7 (5): 335.

L

Loirat C. (2013). Syndrome Hémolytique et Urémique chez l'enfant. *EMC-Néphrologie*, 10 (3):1-15.

Loirat C. (2001). Syndrome hémolytique et urémique typique post diarrhée : aspects cliniques. *Arch Pédiatr*, 8(suppl4) :776-84.

Loirat C., Noris M., Frémeaux-Bacchi V. (2008). Complement and the Atypical hemolytic uremic syndrome in children. *Pediatr Nephrol*, 23(11):1957-72.

Loirat C., Saland J., Bitzan M. (2012). Management of hemolytic uremic syndrome. *Presse Med*, 41 (3P2) : e115-35.

M

Moake JL. (2002). Thrombotic Microangiopathies. *N Engl J Med*, 347: 589-600.

Moulinier C., Veyradier A., Rondeau E., Coppo P. (2013). Microangiopathie Thrombotique. *La Revue du Praticien*, 63 : 163-170.

Moschowitz E. (1925). An acute febrile pbiochronic anemia with hyaline thrombosis of the terminal artériols and capillars: an undescribed disease. *Arch Int Med*, 36 (5) : 89-91.

N

Nathanson S., Kwon T., Elmaleh M. (2010). Adulte neurological involvement in diarrhea associated hemolytic syndrome. *Clin J Am Soc Nephrol*, 22 :506-13.

Noris M., Remuzzi G. (2005). Hemolytic uremic syndrome. *J Am Soc Nephrol*, 16 : 1035-50.

Noris M., Remuzzi G. (2009). Atypique syndrome hémolytique et urémique *N Engl J Med*, 361(17) :1676-1687.

Noris M., Caprioli J., Bresin E. (2010). Relative role of genetic complement abnormalities in sporadic and familial aHUS and their impact on clinical phenotype. *Clin J Am Soc Nephrol*;5(10):1844-59.

P

Pickering M.C., de Jorge E.G., Martinez-Barricarte R., Recalde S., Garcia-Layana A., Rose K.L. (2007). Spontaneous hemolytic uremic syndrome triggered by complement factor H lacking surface recognition domains. *J. Exp. Med*, 204(6):1249-56.

Peigne V., Perez P., Resche Rigon M., Mariotte E., Canet E., Mira J.P., Coppo P., Veyradier A., Azoualy E. (2012). Cause and risk factors of death in patients with thrombotic microangiopathies. *Intensive care Med*, 38 (11): 1810-67.

R

Rapetto H.A. (1997). Epidemic hemolytic uremic syndrome in children. *Kidney Int*, 52; 1708-19.

Reis E.S., Falcao D.A., Isaac L. (2006). Clinical aspects and molecular basis of primary deficiencies of complement component C3 and its regulatory proteins factor I and factor H. *Scand J Immunol*, 63 : 155-68.

Rickelin D., Hajshengallis G., Yang K., Lambris J.D. (2010). Complement: a key system for immune surveillance and homeostasis. *Nat Immunol*, 11(9): 785-97.

Roumenina L.T., Loirat C., Dragon-Durey M.A. (2011). Halbwachs-Mecarelli L, Sautes-Fridman C, Fremeaux-Bacchi V. Alternative complement pathway assessment in patients with atypical HUS. *Journal of immunological methods*, 365(1-2):8-26.

Rosain J., Ngo S., Bordereau P., Poulain N., Roncelin S., Vieira Martins P., Dragan-Durey M.A., Fréameux-Bacchi V. (2014). Déficits en protéines du complément et pathologies humaines. *Ann Biol Clin*, 72(3): 271-80.

Rock G.A., Shumak K.H., Buskard N.A., Blanchette V., Kelton J., Nair R.C., Spasoff R.A. (1991). Comparison of plasma exchange with plasma infusion in the treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura. *N Engl J Med*, 325 : 393-7.

Remuzzi G. (1987). SHU et PTT: expression variable d'une entité unique. *rein Int* ,32 : 292-308.

S

Sadler JE., Moake JL., Miyata T., Programme George JN. (2004). Recent advances in thrombotic thrombocytopenic purpura. *Hématologie Am Soc Hematol Educ*, 407-423.

Sellier-Leclerc A.L., Frémeaux-Bacchi V., Dragon-Durey M.A., Macher M.A., Niaudet P., Guest G. (2007). Differential impact of complement mutations on clinical characteristics in atypical hemolytic uremic syndrome. *J. Am. Soc. Nephrol*, 18(8):2392-400.

T

Tarr P.I., Gordon C.A., Chandler W.L. (2005) Shiga-toxin-producing *Escherichia coli* and haemolytic uremic syndrome. *Lancet*, 365(9464): 1073-86.

Tsai H.M. (2010). Pathophysiology of thrombotic thrombocytopenic purpura. *Int J Hematol*, 91 (1): 1–19.

W

Wagnec E., D p. (2006). Le système du complément : Rôle et importance de sa mesure. *Ann Biol Clin Qué*, 43 (2): 11-20.

Z

Zoja C., Buelli S., Morigi M. (2010). Shiga toxin-associated hemolytic uremic syndrome: pathophysiology of endothelial dysfunction. *Pediatr Nephrol*, 25(11): p. 2231-40.

Zuber J, Le quintec M, Sberro-Soussan R, Loirat C, Frémeaux-Bacchi V, Legendre C. (1997). haemolytic uremic syndrome. *Nat Rev Nephrol*, 76 (3) : 518-521.

Annexes -1

■ Matériel non biologique

➤ Appareillage :

- Agitateur (THERMOHAAKE SWB25).
- Centrifugeuse réfrigérée (JOUAN E96).
- Néphélométrie laser (MININEPH™).
- Spectrophotomètre (AMERSHAM –ulhospec 3600 pro).



Figure 28: Néphélométrie laser.



Figure 29: Centrifugeuse.



Figure 30: Agitateur.

➤ **Equipements :**

- Chronomètre.
- Cupules.
- Embouts.
- Eppendorfs.
- Film protecteur.
- Micropipettes réglables.
- Papier Joseph.
- Portoirs.
- Tubes en verre et en plastique de 5 ml.

➤ **Verrerie :**

- Bécher.
- Eprouvettes graduées.
- Erlenmeyer.
- Pipettes pasteur.
- Pipette multicanaux.
- Pissette.
- Tubes à essai.
- Tube à visse.
- Vortex.

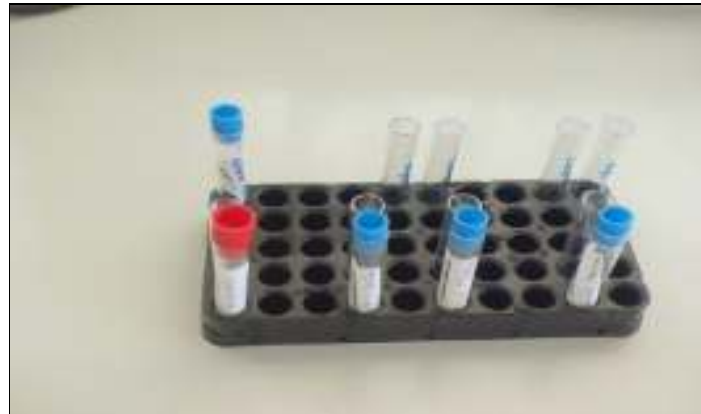


Figure 31: Les prélèvements sanguins de nos patients.



Figure 32: La micropipette électronique de la NININEPH™.



Figure 33: Le coffret de dosage de la protéine C3 /C4 Humaines sur MININEPH™.

Annexe- 2

■ Prélèvement sanguin

Le sang est récolté dans différents tubes suivants : Citraté, EDTA et Sec.

1– les tubes citraté (nature de l'échantillon : le plasma) ; permettant le dosage immunoenzymatique par la technique d'ELISA du taux de l'activité d'ADAMTS-13.

2– les tubes EDTA contiennent des chélateurs d'ions (Ca^{2+}) qui empêchent l'activation spontanée du complément, ce qui nous permet d'explorer le complément. (Dosage antigénique des fractions C3 et C4 par la technique d'immunos dosage : la Néphélométrie laser).

3– les tubes secs contenant (nature de l'échantillon : le sérum) ; serviront pour le dosage antigénique des fractions : FH, FB et FI. (Dosage antigénique par la technique d'immunos dosage : Immunodiffusion radial).

1. ELISA (activité ADAMTS 13)

Tableau III: Description du produit fournis par (TECHNOZYM®)

Composition du kit	Quantité des réactifs
Plaque d'ELISA	Contenant 8 puits recouverts avec un anticorps anti GST.
calibrateurs de 1 à 6.	6 falcons
Les controles	2 flacons
Solution de conjuguer	Anticorp monoclonal anti-N10 conjugué à de l'HRP.
Solution d'arrêt	Acide sulfurique 0,5 mol/.
Tampon de lavage 10 fois concentré.	1 flacon
Substrat lyophilisé GST-vWF 73.	2flacons 6 ml
Tampon de réaction	1 flacon de 30 ml

❖ Préparation des réactifs

Avant de commencer les dosages, tous les composants doivent être placés et stabilisés à température ambiante.

○ **Préparation du tampon de lavage à utiliser :**

Diluer 1 vol de tampon de lavage concentré avec 9 volumes d'eau distillée (1+9).

○ **Reconstitution de la solution de substrat vWF :**

La solution de substrat est reconstituée avec 6 ml d'eau distillée.

○ **Reconstitution des calibrateurs et des contrôles plasmatiques :**

Les calibrateurs et les contrôles plasmatiques sont reconstitués avec 500 µl d'eau distillée.

○ **Dilution des échantillons/ calibrateurs/ contrôles :**

Les échantillons / calibrateurs/ contrôles doivent être dilués au préalable 31 fois avec le tampon de réaction en utilisant la plaque de dilution.

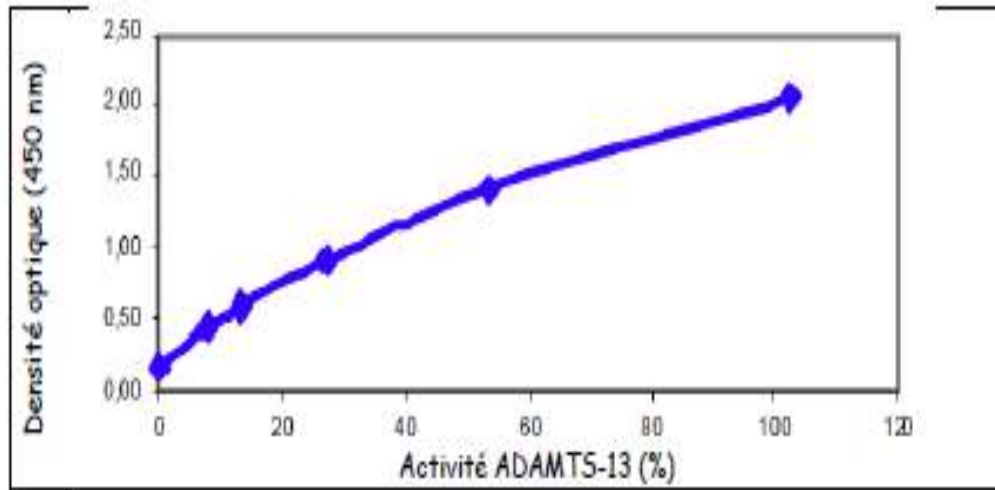


Figure 34: La courbe de calibration d'ADAMTS13 (d'après le kit de Technozym®).

2. La Néphélométrie laser

Tableau IV: Description des produits fournis par BINDING SITE

Composants du Kit	Quantité des réactifs
Antisérums MININEPH C3 / C4 Humaines	Sous forme liquide, 1 flacon contient 0,099% d'azide de sodium, 0,1 d'EACA et 0,01% de benzamidine comme conservateur
Carte magnétique MININEPH C3/C4 Humaines	Contient les détails de la courbe de calibration spécifique de chaque lot.
Buffer MININEPH C3/C4 (Tampon)	Contient 0,099% d'azide de sodium comme conservateur.
Contrôles Bas et Haut MININEPH C3/C4 Humaines	Ce sont des pools de sérum humains normaux, contient 0,099% d'azide de sodium, 0,1% d'EACA et 0,01% de benzamidine comme conservateur.

❖ Procédure de Test – Appareil MININEPH™

- Tous les réactifs et les échantillons sont préparés à une température ambiante.
- Les contrôles et les échantillons sont dilués :

En utilisant le tampon de dilution MININEPH. La dilution recommandée est 1/11. Donc, En ajoutant 40ul d'échantillon à 400ul de tampon de dilution.

- Une cuvette est préparée pour chaque échantillon à analyser. A l'aide des pinces un barreau aimanté est placé au fond de la cuvette et à l'aide de la pipette 40ul d'échantillon dilué est placé au fond de la cuvette.
- Pius, la cuvette est placée dans la chambre de lecture et en la descendre jusqu'au fond.
- 400 µl de tampon MININEPH et 40 µl d'antisérum MININEPH sont placées à l'aide de la pipette électronique au fond de la cuvette. (Tableau ci-dessous).

Tableau V : Les différents volumes des réactifs déposés dans la cuvette de la Néphélomètre (MININEPH™).

Réactif	Volume déposée dans la cuvette
Echantillon (dilution 1 /11)	40µl
Tampon MININEPH C3 / C4	400µl
Antisérum MININEPH C3 / C4	40µl

- Le MININEPH détecte l'addition des réactifs, la solution est agitée puis la mesure démarre.
- Le test dure 30 secondes et le résultat est alors affiché et imprimé automatiquement.

3. L'immunodiffusion radiale

Tableau VI: Description des produits de l'immunodiffusion fournis par BENDINGSITE

Composition du kit	Quantité des réactifs
Plaque IDR	14 piuts Gel d'agarose
Contrôles	1 flacon lyophilisé
Calibrateurs	1 flacon lyophilisé

Annexe- 3

CENTRE HOSPITALO-UNIVERSITAIRE DE TIZI-OUZOU Le 11/11/2013
SERVICE DE NEPHROLOGIE DIALYSE ET TRANSPLANTATION RENALE
CHEF DE SERVICE PR

Cher confrère

Permettez-moi de vous adresser les prélèvements sanguins du patient pour bilan de syndrome hémolytique et urémique atypique.

Le malade est âgé de 29 ans, sans antécédents pathologiques particuliers, hospitalisé dans notre service pour prise en charge d'un syndrome hémolytique et urémique suspecté sur les éléments cliniques et biologiques suivants :

- HTA sévère.
- Insuffisance rénale d'allure aigue.
- Anémie hémolytique : HB 6,6 g/dl, Schizocytes et test de Coombs négatif.
- Thrombopénie.
- LDH élevés.


Les bilans demandés :

- C3, C4.
- Facteur H.
- Facteur B.
- Facteur I.
- ADAMTS-13.
- Facteur MCP.

En attendant votre réponse recevez monsieur mes sincères salutations.

Confraternellement

Figure 35: Exemple d'une Fiche médicale


Institut Pasteur d'Algérie
SERVICE D'IMMUNOLOGIE
LABORATOIRE
FICHE DE RENSEIGNEMENTS

Nom Prénom : Sexe : Date de naissance :

Externe : Hospitalisé : Hôpital : Service :

En cas de bilan(s) antérieur(s) préciser numéro(s) et date(s) :

Cachet et signature du médecin traitant (obligatoire)

ELEMENTS MOTIVANT LA DEMANDE

Date de début de la symptomatologie :

Signes cliniques :


Diagnostic suspecté :

Traitement éventuel :

EXAMENS DEMANDES

1. Exploration du système du complément
 - C3
 - C4
 - FH
 - FB
 - FI
2. Exploration de l'activité d'ADAMTS-13

Figure 36: Fiche de renseignement.


Institut Pasteur d'Algérie
SERVICE D'IMMUNOLOGIE
LABORATOIRE DE BIOCHIMIE DES ANTIGENES ET ANTICORPS MONOCLONAUX

Fiche de renseignement

NOM : PRENOM : Date de naissance :

Sexe : Adresse : Tel / e-mail :

Service : Hôpital : Date de l'hospitalisation :

Antécédent personnels :

Cas similaire dans la famille :

Présence d'un terrain atopique :

- **Pathologie suspectée :**

Purpura Thrombotique Thrombocytopenique :	non familial	familial
Syndrome Hémolytique et Urémique :	non familial	familial
- **Pathologie associées :**

Grossesse (tems :) :	Cancer :	Infection :
Médicament :	Greffe :	Maladie Auto-Immune :

Autres :
- **Contexte clinique :**

Figure 37: Fiche de renseignement de l'exploration de l'ADAMTS-13 de laboratoire.

Fièvre :

Signes neurologique :	Non	Oui	Préciser :
Signes abdominaux :	Non	Oui	Préciser :
Signes cardiaque :	Non	Oui	Préciser :

- **Paramètre biologique :**
 - Insuffisance rénale : Non Oui

Si oui, Préciser : - Urée (mmol/l)

- Créatinine (mmol/l)

- Anémie Hémolytique : Non Oui

Si oui, Préciser : - Hémoglobine (g/dl)

- Schizocyte (%)
- LDH
- Haptoglobine

- Thrombopénie : Non Oui

Si oui, Préciser : - plaquettes (giga /l)

- Hémostase : Non Oui

Si oui, Préciser : - TP

- TCA(Ratio)
- Fibrinogène



INSTITUT PASTEUR D'ALGERIE

CENTRE DES INVESTIGATIONS BIOLOGIQUES

Nom :

Date de prélèvement :

Prénom :

N° d'ordre :

Age :

Analyse demandée par :

Examen	Résultats	Normes
Dosage antigénique des fractions :		
C3 (Par Néphélométrie laser).....		0,55 – 1,2 (g/l)
C4 (Par Néphélométrie laser).....		16 – 48 (mg /dl)
Facteur B (Par Immunodiffusion Radiale).....		200 – 400 (mg/l)
Facteur H (Par Immunodiffusion Radiale).....		350 – 700 (mg/l)
Facteur I (Par Immunodiffusion Radiale).....		18 – 45 (mg/l)

Conclusion :

.....

Figure 38: Fiche des résultats d'exploration de système du complément.



INSTITUT PASTEUR D'ALGERIE

CENTRE DES INVESTIGATIONS BIOLOGIQUES

Nom :.....

Date de prélèvement :.....

Prénom :.....

N° d'ordre :.....

Age :.....

Analyse demandée par :.....

RESULTATS D'EXPLORATION DE L'ACTIVITE DE L'ADAMTS 13

(Technique ELISA, Technozym ADAMTS13 Activity, Technoclone, Autriche)

	Résultats	Références (Firme)	Références Algériennes (Sur 20 donneurs sains)
Activité de l'ADAMTS13 :.....		40 - 130%	45 – 116%

CONCLUSION :

.....

Figure 39: Fiche des résultats de l'exploration de l'activité d'ADAMTS13.

Annexe- 4

➤ Les différentes caractéristiques :

- Sexe

Sexe	Effectif (n=26)	Pourcentage (%)
Homme	12	46,15
Femme	14	53,84
Total	26	100

- Provenance :

Le service	Effectif (n=26)	Pourcentage (%)
Néphrologie	16	61,53
Pédiatrie	8	30,76
Cardio-vasculaire	1	3,84
Médecine interne	1	3,84
Totale	26	100

- Classe d'âge :

Age	Effectif (n= 26)	Pourcentage (%)
[0-3]	8	30,76
[3-6]	2	7,69
[6 – 9]	0	0
[9-12]	2	7,69
[12 – 15]	3	11,53
<15	8	30,76
Age non fournie	3	11,53
Total	26	100

- Première crise :

Aga de la première crise	Effectif (n=26)	Pourcentage(%)
Moins de 15 ans	15	57, 69
Plus de 15 ans	8	30,76
Age non fourni	3	11,53
Total	26	100

- ATCD familiaux :

ATCD familiaux	Effectif (n=26)	Pourcentage(%)
Avec	6	23,07
Sans	20	76,92
Total	26	100

- ATCD personnel :

ATCD personnel	Effectif (n=26)	Pourcentage(%)
Glomérulonéphrite type 1	2	7,69
Maladie cœliaque avec PTi	1	3,84
Post partum	1	3,84
Prise des médicaments	1	3,84
Sans ATCD	21	80,76
Total	26	100

- Mortalité

Le cas	Effectif (n=26)	Pourcentage(%)
Vivant	23	88,46
Décès	4	11,53
Total	26	100

- Résultats globaux:

complémentémie	Effectif (n=26)	Pourcentage(%)
Hypo	18	69,23
Hyper et Normo	8	30,76
Total	26	100

- l' »Hypo » complémentémie :

L'hypocomplémentémie	Effectif (n=18)	Pourcentage(%)
Avec une C3 abaissé	15	57,69
Avec une C3 normal	3	11,53
Total	18	69,23

- Hypocomplémentémie avec une C3 abaissée

C3 abaissé	Effectif (n=15)	Pourcentage(%)
Avec C4 normal ou élevée	10	38,46
Avec C4 abaissé	5	19,23
Total	15	57,69

- Hypocomplémentémie C3 abaissé avec C4 normal ou élevée

C3 abaissé avec C4 normal ou élevé	Effectif (n=10)	Pourcentage (%)
C3 abaissé isolé	6	23,07
Avec FH abaissé	2	7,69
Avec FB abaissé	1	3,84
Avec FI abaissé	1	3,84
Total	10	38,46

- Hypocomplémentémie avec C3 normal

C 3 normal	Effectif (n=3)	Pourcentage (%)
Avec FH	2	7,69
Avec FB abaissé	1	3,84
Avec FI	0	0
Total	3	11,53

- Activité de l'ADAMTS-13

l'activité d'ADAMTS-13	Effectif (n=15)	Pourcentage
Normal	12	80
Diminué	3	20
Total	15	100

➤ **Les résultats de référence du laboratoire « Institut Pasteur »**

Tableau VII: Résultats de référence de l'ELISA

Enzyme	Normes
ADAMTS-13	40 - 130%

Tableau VIII: Résultats de référence de la Néphélométrie laser

Fraction	Normes
C3	0,89 - 1,87(g/l)
C4	0,16 - 0,4(g/l)

Tableau IX: Résultats de référence de l'immunodiffusion radial

Facteur	Normes
B	200- 400 mg/l
H	350 – 700 mg/l
I	18 – 45 mg/l

