

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET
POPULAIRE

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

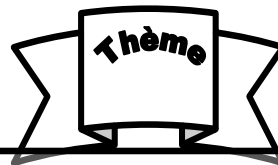
Université SAAD DAHLEB de Blida



Faculté de science de la nature et de vie

Département de biologie et physiologie cellulaire

Mémoire de fin d'étude pour l'obtention d'un diplôme de master
professionnelle en bio-signalisation moléculaire et cellulaire :
immunologie



Les auto-anticorps anti-muscle lisse (SMA) et
anti-mitochondries (AMA) du foie

Réalisée par :

- *M^{elle} MAHDID HALIMA*
- *M^{elle} BELAIDI FATMA ZOHRA*

Encadrées par :

- *Présidente : Mme Aissani Radia* *Maître assistante à USDB*
- *Examinateur : Mr Benyahya* *Maître assistant à USDB*
- *Promotrice : docteur Alem Ines* *Maître assistante à CHU de B M*
- *Co-promoteur : Mr Khelfi Abderrazek* *Enseignant chercheur à USDB*

2015-2016

Remerciements

Nous rendons grâce à notre dieu qui nous a donné le courage, la santé et la volonté, la patience et les moyens afin que nous puissions accomplir ce modeste travail.

Dans un premier temps, nous tenons à exprimer toute notre gratitude et notre reconnaissance envers nos parents respectives pour nous avoir offert l'opportunité de faire ces études mais aussi pour tout le soutien qu'ils nous ont apporté depuis toujours, et c'est bien grâce à eux que nous en sommes là aujourd'hui.

Nous tenons à remercier particulièrement Mr Djidjik professeur en immunologie chef de service de laboratoire d'immunologie en CHU de Béni Messous de m'avoir accueilli dans son service afin d'y pratiquer le stage.

A notre encadrant docteur Alam Ines médecin spécialiste en immunologie, maitre assistante en laboratoire d'immunologie CHU de Béni Messous d'avoir acceptée d'encadrer notre recherche.

A notre co-promoteur Mr Khelfi, chercheur, enseignant à l'université de Saad Dahleb-Blida, Vos précieux conseils, vos explications et orientations qui nous ont éclairé la méthodologie de la recherche et votre aide durant toute la période de la réalisation de ce modeste travail.

Notre vifs remerciements vont également aux membres du jury pour l'acceptation d'examiner notre travail.

Nous profitons l'occasion pour exprimer notre sincères remerciements, généralement, à tous notre enseignants qui ont veillé à nous donner du savoir tout au long de notre carrière scolaire et, en particulier, à tous notre professeurs de la faculté des sciences de Blida qui nous ont enseigné et qui par leurs compétences nous ont soutenu durant toutes ces 5 années.

Dédicace

Je dédie ce mémoire à

Mes très chers parents, leurs dévouement et leurs gentillesse qui ont été pour moi un soutien constant tout au long de ses années d'études qu'ils trouvent ici le témoignage de ma profonde affection et connaissance.

À mes chers frères et chères sœurs.

À mes chers amis, et aux étudiants de notre promotion.

J'espère avoir répondu aux espoirs que vous avez fondés en moi.

Résumé

Le foie occupe une place importante dans l'organisme car cet organe a la capacité non seulement d'induire une réponse immunitaire robuste contre les microorganismes pathogéniques mais aussi d'induire la tolérance envers les antigènes alimentaires ou provenant de la flore intestinale. La perte de cette tolérance est la première cause de l'apparition des hépatopathies auto-immunes.

Dans cette étude prospective, on a réalisé des dosages immunologiques des auto-anticorps anti-muscle lisse (SMA) et des auto-anticorps anti-mitochondries (AMA) chez 86 patients qui présentent des signes cliniques en faveur des hépatopathies auto-immunes.

Pour ce faire, on a utilisé deux techniques :

La technique de l'immunofluorescence indirecte sur foie/rein/estomac de rat (IFI) qui permet la détection de l'ensemble des auto-anticorps d'intérêt à l'exception des anticorps anti-soluble liver antigen (anti-SLA). Elle nécessite cependant l'utilisation de techniques de confirmation ELISA pour l'identification des principales cibles antigéniques reconnues par ces anticorps.

Les auto-anticorps anti-mitochondries(AMA) sont étroitement associés à la cirrhose biliaire primitive, principalement dans leur spécificité anti-M2 par contre les patients atteints d'HAI de type 1 est caractérisé par la présence des auto-anticorps anti-muscle lisse (SMA).

Nos résultats ont démontré que la présence des auto-anticorps spécifiques du foie ne signifie pas nécessairement la présence d'une hépatopathie auto-immune et elle peut être liée à des autres atteintes hépatiques ou non hépatiques.

Mais, elle reste toujours l'un des principaux critères de diagnostic des hépatopathies auto-immunes

Mots clés

Hépatopathies auto-immunes, auto-anticorps anti-muscle lisse, auto-anticorps anti-mitochondries, hépatite auto-immune, cirrhose biliaire primitive.

Abstract

The liver plays an important role in the body because this body has the ability not only to induce a robust immune response against pathogenic microorganisms but also to induce tolerance towards food antigens or from the intestinal flora. The loss of this tolerance is the primary cause of the occurrence of autoimmune liver diseases.

In this prospective study, we realized immunoassays of anti-smooth muscle auto-antibodies (SMA) and anti-mitochondria's auto-antibodies (AMA) in 86 patients with clinical signs for autoimmune liver disease.

To do this, we used two techniques:

The technique of indirect immunofluorescence on liver / kidney / rat stomach (IFI), which allows the detection of all auto-antibodies of interest with the exception of anti-soluble liver antigen antibody (anti-SLA). However, it requires the use of confirmation ELISA techniques for identifying key target antigens recognized by these antibodies.

Our results demonstrated that the presence of auto-antibodies specific for the liver does not necessarily mean the presence of autoimmune hepatic disease and can be bind to the liver or other non-hepatic injury.

But it still remains one of the main diagnostic criteria for autoimmune liver disease.

المخلص

يلعب الكبد دورا هاما في الجسم لأنه يمتلك القدرة على تحفيز استجابة مناعية ضد الأجسام الغريبة و السماح للأجسام الغريبة الذاتية الغذائية و المعوية.

في هذه الدراسة قمنا باختبارات مناعية لـ 86 مريضا لديهم أعراض لمرض مناعي كبدي للبحث عن الأجسام المضادة ضد العضلة الملساء و ضد الميتوكوندرية باستعمال اختبارين مناعيين.

النتائج التي تحصلنا عليها تؤكد أن وجود الأجسام المضادة الذاتية الخاصة بالكبد لا يعني بالضرورة وجود مرض مناعي و لكن يبقى من أفضل الطرق لتشخيصها.

Liste d'abréviation

Ac : Anticorps.

Ag : Antigène.

Auto-Ac : Auto-Anticorps

Auto-Ag : Auto-Antigène

MAI : Maladie auto-immune

HAI: hépatite auto-immune

CBP: cirrhose biliaire primitive.

AMA: anticorps anti-mitochondries.

Anti-ANA: anticorps anti-noyau.

Anti-LKM1: auto-anticorps anti-microsome de foie et de rein de type 1.

Anti-LC1: auto-anticorps anti-cytosol de type 1.

Anti-ANCA: auto-anticorps anti-cytoplasme de neutrophiles.

Anti-SMA : anticorps anti-muscle lisse.

Anti SLA: Soluble Liver Antigen.

IFI: immunofluorescence indirecte.

ELISA: Enzyme Linked Immuno-sorbent Assay

.

GLOSSAIRE

- **un chevauchement :**
Entre les différentes maladies auto-immunes (manifestation de plusieurs maladies chez la même personne) ou une association entre plusieurs de ces maladies de 2 ou plusieurs maladies). Ceci dépend du type de maladie.
- **Overlap syndrome :**
Ce terme désigne des patients qui présentent initialement une maladie avec tous les critères clinique, sérologique et histologique d'une cirrhose biliaire primitive s'étant brutalement transformée vers des aspects cliniques, sérologiques et histologiques d'une hépatite auto-immune.
- **Auto-anticorps :**
Anticorps élaboré par un organisme en réponse à un antigène provenant du même organisme (auto-antigène).
- **Auto-antigène :**
Substance capable de susciter l'apparition d'auto-anticorps au sein du même organisme dont elle issue.
- **Auto-immunité :** état d'immunisation d'un sujet vis-à-vis de ses propres constituants.
- **Hépatite auto-immune :** L'hépatite auto-immune est une maladie inflammatoire du foie caractérisée par la présence d'auto-anticorps sériques.
- **Cirrhose biliaire primitive :** est une maladie chronique du foie, caractérisée sur le plan histologique par une inflammation et une destruction progressive des canaux biliaires de petit et moyen calibre et sur le plan sérologique par la présence dans le sérum d'anticorps anti-mitochondries (AMA).
- **La choléstase :** correspond à l'ensemble des manifestations correspondant à une diminution ou à un arrêt de la sécrétion biliaire.
- **Immunofluorescence indirecte :** L'immunofluorescence est une technique sérologique basée sur la réaction antigène / anticorps, révélée grâce à un second anticorps spécifique du premier et couplé à un fluorochrome.
- **ELESA :** Le test E.L.I.S.A. est un test immunologique; il permet de détecter des anticorps sécrétés en réponse à une infection.

SOMMAIRE

INTRODUCTION

CHAPITRE I: DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

I-1-Généralités.....	1
I-1-1-Rappel sur le foie.....	1
I-1-2-Cellules du foie et leurs fonctions.....	2
I-2-Maladies auto-immunes.....	3
I-2-1-Définition.....	3
I-2-2-Classification des maladies auto-immunes.....	3
I-3-Hépatite auto-immune	5
I-3-1- Pathogenèse	6
I-3-2-Types d'hépatite auto-immune.....	6
I-3-2-1- Hépatite auto-immune de type 1.....	6
I-3-2-2-Hépatite auto-immune de type 2.....	7
I-3-3-Mise en évidence des HAI.....	7
I-4-Cirrhose biliaire primitive	8
I-4-1- Pathogenèse.....	9
I-4-2- Mise en évidence de la cirrhose biliaire primitive.....	9
I-5- Auto-anticorps du foie.....	10
I-6- Types d'auto-anticorps du foie.....	10
I-6-1-.Anticorps anti-mitochondries.....	10
I-6-2- Anticorps anti-muscle lisse.....	11
I-6-3- Anticorps anti-Liver/ Kidney microsome	12
I-6-4- Anticorps anti-cytosol hépatique LC1.....	13

CHAPITRE II: Matériel et méthodes

Type d'étude.....	14
Objectifs.....	14
I-1-Matériel biologiques	14
I-1-1-Echantillon.....	14
I-1-2-Population étudié.....	14
I-2-3-Prélèvement.....	14
II-2-Méthodes.....	15
II-2-1-Immunofluorescence indirecte(IFI).....	15
-Principe.....	15
-Matériel consommables et réactifs	15
-Equipement et appareillage.....	15
-Mode opératoire.....	16
-Interprétation des résultats.....	16
II-2-2-ELSA.....	17
-Principe.....	17
-Matériel utilisés.....	17
II-2-2-1-Dosage des anticorps anti-muscle lisse.....	18
-Préparation du test.....	18
-exécution du test.....	18
II-2-2-2-Dosage des anticorps anti-mitochondries.....	20
-Préparation du test.....	20
-exécution du test.....	20
-Calcul des résultats.....	21
-Interprétation des résultats.....	22

Chapitre III : résultats

Résultats.....	23
III-1-Echantionnage.....	23
III-1-1-la répartition selon le sexe.....	34
III-1-2-la répartition selon l'âge.....	34
III-2-résultats des examens d'auto-immunité.....	26
III-2-1-Aspects des AMA 2 par IFI sur LKS.....	26

III-2-1-Aspects des SMA par IFI sur LKS.....	26
III-3-Résultats de la recherche des auto-anticorps par IFI.....	27
III-3-1-Titrage des SMA.....	28
III-3-2-Titrage des AMA2 par IFI.....	29
III-4-Signes cliniques.....	30

Chapitre IV : discussion

Discussion.....	32
Conclusion.....	35

Les références bibliographiques

Les annexes

Listes des figures

<i>figures</i>	<i>titres</i>	<i>page</i>
figure 1	structure de foie	2
figure 2	Représentation schématique des cellules présentes dans le foie.	3
figure 3	la fiche de renseignements	Annexe 1
figure 4	principe d'IFI	annexe 2
figure 5	Lame de LKS	annexe 3
figure 6	Le diluant PBS	annexe 4
figure 7	Le conjugué IgG	annexe 5
figure 8	Bac à coloration pour lavage de lame	annexe 6
figure 9	Agitateur magnétique	annexe 7
figure 10	microscope à fluorescence	annexe 8
figure 11	principe d'ELISA	annexe 9
Figure 12	Plaqué d'ELISA	Annexe 10
figure 13	Lecteur d'ELISA	annexe 11
figure 14	représentation graphique selon la présence ou non d'une atteinte hépatique auto-immune	29
figure 15	la répartition des maladies auto-immunes du foie selon le sexe.	24
figure 16	la répartition des maladies auto-immunes du foie selon l'âge.	25
figure 17	représentation graphique des résultats de recherche des auto-anticorps du foie.	27
figure 18	représentation graphique des titres des SMA	28
figure 19	représentation graphique des titres des AMA2	29
figure 20	: représentation graphique des signes cliniques pour les patients qui ont des AMA2 positifs et qui développent une CBP	30
figure 21	représentation graphique des signes cliniques pour les patients qui ont des SMA positifs et qui développent une HAI.	31

Liste des tableaux

tableau	titres	page
tableau 1	les différents types d'anticorps anti-mitochondries	11
tableau 2	les différents types d'anticorps anti-LKM	13
tableau 3	Résultats des patients avec une atteinte hépatique et sans atteinte hépatique.	23
tableau 4	résultats de la mise en évidence des auto-anticorps du foie	27
tableau 5	résultats de titrage des SMA	28
tableau 6	résultats de titrage des AMA2	29

Introduction

L'HAI est une maladie chronique progressive du foie dont l'étiologie reste encore inconnue à ce jour (**Summerskill et al., 1975**).

L'identification des différents auto-anticorps présents dans le sérum des patients et la caractérisation exacte des différentes cibles antigéniques permet de classer les HAI en deux types principaux : HAI de type 1 et HAI de type 2 (**Beland et al., 2009**).

La cirrhose biliaire primitive (CBP) est une maladie chronique du foie d'étiologie inconnue, Elle est caractérisée sur le plan histologique par une inflammation et une destruction progressive des petits canaux biliaires intra-hépatique (**kaplan, 1996**).

Les hépatopathies auto-immunes touchent à la fois les hommes et les femmes, mais il existe une nette prédominance féminine (**Dulcos-Vallée et al., 2005**).

Les auto-anticorps sont des marqueurs diagnostiques des hépatopathies auto-immunes très utiles. Mais, ne signifie pas nécessairement l'existence d'une maladie auto-immune du foie car peuvent également être mis en évidence chez les patients atteints d'autres maladies (**Johanet, 2010**).

La détection de ces auto-anticorps justifie une stratégie en 2 étapes : dépistage en IFI (sur les lames LKS) puis l'identification par une technique immunologie ELISA (**Johanet, 2010**).

C'est dans ce contexte que s'insère le but de ce travail qui consiste à rechercher les auto-anticorps du foie par la technique d'IFI et leur confirmation par la technique d'ELISA et de corrélérer la présence de ces auto-anticorps avec les signes cliniques des hépatopathies auto-immunes.

Chapitre I :

Généralités

I-1-Généralités

I-1-1-Rappels sur le foie:

Le foie est le plus gros organe interne chez les vertébrés, pesant environ 1,5 kg. De couleur rouge sombre, il est situé dans le quart supérieur droit de l'abdomen. En raison de son emplacement anatomique, il joue un rôle important dans le maintien de l'homéostasie générale par ses nombreuses fonctions métaboliques de synthèse, de stockage et de détoxification. **(Fig 01)**

Le foie synthétise l'essentiel des protéines circulantes, à l'exception des immunoglobulines, de nombreuses protéines indispensables à l'homéostasie de l'organisme dans les domaines du transport cellulaire, de l'hémostase, de la réponse inflammatoire et immunitaire **(Masson, 2014)**.

Le foie est constamment exposé à une multitude d'antigènes alimentaires et de micro-organismes provenant du système veineux gastro-intestinal et de la rate. Plus de 30% (1500 ml/min) du sang total passe à travers le foie à chaque minute **(Sheth et Bankey, 2001)**.

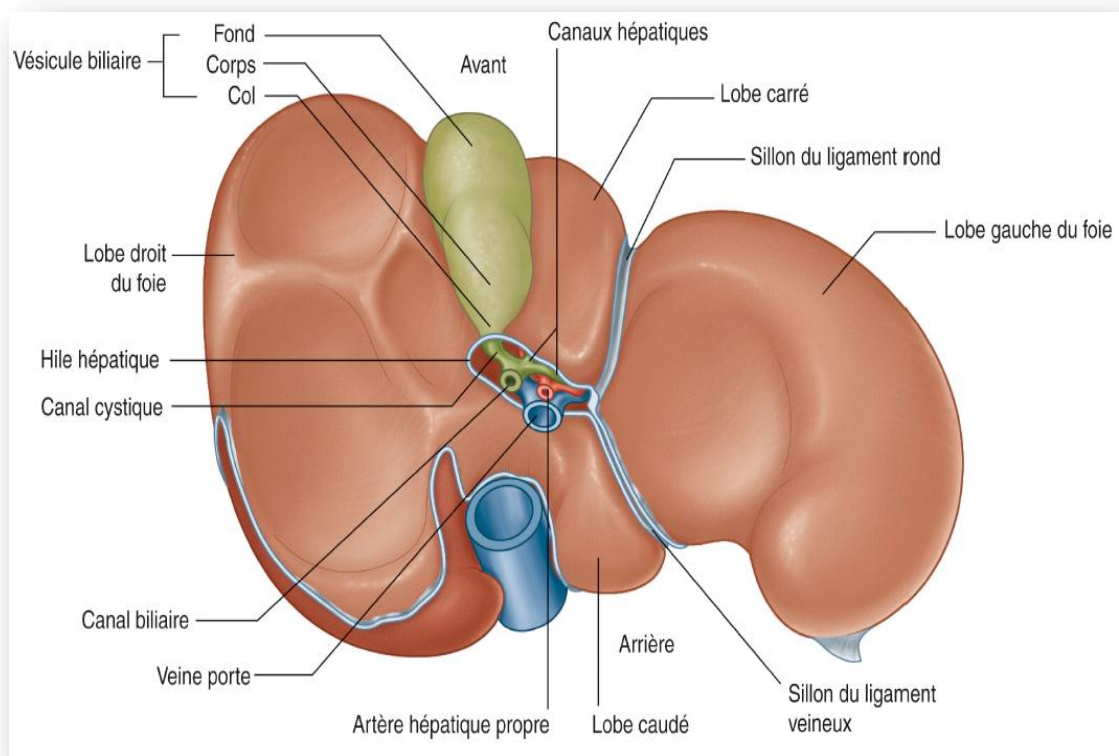


Figure1 : structure de foie (Drake et Masson, 2011)

I-1-2-Les cellules de foie et ses fonctions :

Le foie est composé en majorité d'hépatocytes (60%), mais aussi d'autres types cellulaires dont les cellules endothéliales, les cellules de Kupffer, les cellules de l'épithélium biliaire, les cellules étoilées, les cellules dendritiques et les lymphocytes intra-hépatiques. Tous ces types cellulaires remplissent des fonctions spécifiques dans le foie afin d'assurer son bon fonctionnement (**Warren et al., 2006**).

La constitution cellulaire immunitaire du foie diffère grandement de celle retrouvée dans la périphérie.

Le foie contient en majorité de lymphocytes non conventionnels, catégorisés en deux populations : cellules NK(CD3⁻, CD16⁺, CD56⁺) et NKT(CD3⁺, CD161⁺, CD56⁺) (60%) qui ont un rôle primordial dans l'immunité du foie. Par ailleurs, les lymphocytes T et B ne représentent que 40% des cellules retrouvées dans le foie. On remarque aussi une plus grande fréquence de lymphocytes T CD8⁺ que de lymphocytes T CD4⁺. À part les cellules immunitaires, le foie contient aussi une population résidente de macrophages(CPA) qui est les cellules de macrophages dérivées de monocytes de la moelle osseuse, les cellules endothéliales sinusoidales du foie (LSEC) et les cellules dendritiques hépatiques résidentes (**Lapierre et Alvarez, 2007**).

Les cellules de Ito (appelées également lipocytes) : ces cellules sont localisées dans l'espace péri-sinusoidal de Disse, entre hépatocytes et cellules endothéliales.

Leurs très longs prolongements cytoplasmiques entourent complètement plusieurs capillaires sinusoides adjacentes. Dans leur cytoplasme se trouvent des globules lipidiques contenant de la vitamine A. Elles ont occasionnellement des contacts étroits avec les hépatocytes (**figure 2**) (**Rosenbaum et al., 1991**).

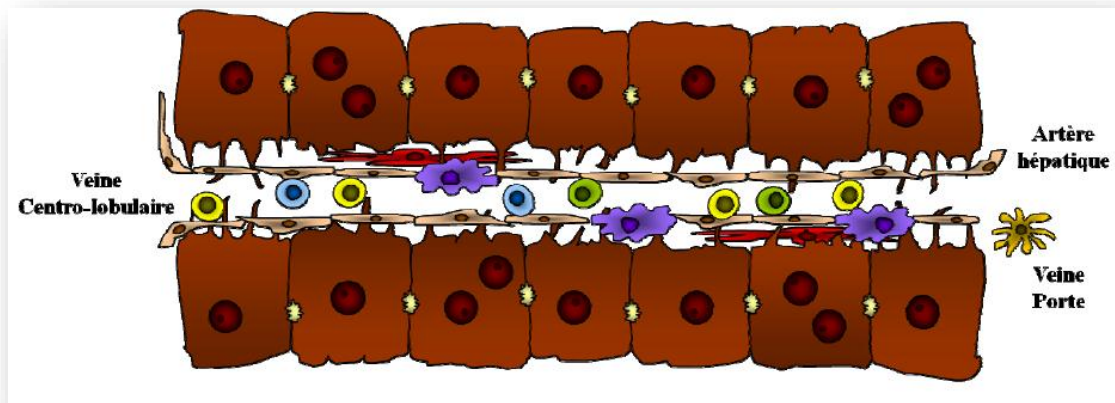


Figure 2: Sinusoïdes hépatiques. Le sang traversant le foie passe à travers de petits sinusoièdes ralentissant le flux sanguin ce qui permet une plus longue interaction entre les lymphocytes et les CPA. Les hépatocytes, à l'aide de leurs prolongements passent à travers les pores fenestrés des cellules endothéliales tapissant les parois des sinusoièdes. Lymphocytes T (bleu), cellules NK (jaune), cellules NKT (vert), cellules de Kupffer (violet) et les hepatocytes (rouge). (**Lapierre et Alvarez, 2007**)

I-2- Maladies auto-immunes :

I-2-1-Définition :

Les maladies auto-immunes (MAI) sont des maladies dans lesquelles les lésions observées sont dues à la mise en jeu d'une réaction immunitaire vis-à-vis des constituants du soi (**Association des Collèges des Enseignants d'Immunologie des Universités de Langue française, 2010-2011**). Des facteurs génétiques, immunologiques, hormonaux et environnementaux (virus et bactéries) peuvent jouer un rôle dans l'apparition et le développement de ces pathologies. Leur prévalence est d'au moins 5% de la population et surviennent souvent chez des sujets jeunes.

I-2-2-Classification :

La classification est basé sur :

Nombre de gène atteint, aspect morphologique et histologique, (**Andrianjafison, al.,2014**) etaussiselon la nature des mécanismes pathogéniques et des auto-antigènes impliqués.les MAI sont divisées en MAI spécifiques d'organes ou de tissus et MAI

non spécifiques d'organes, encore appelées maladies systémiques (**ponvert et al., 1991**).

Dans les MAI spécifiques d'organes, des auto-anticorps ou des lymphocytes T sont dirigés contre des antigènes restreints à une distribution tissulaire ou à un organe.

- ✓ Les **thyroïdites auto-immunes** : comme la maladie de Basedow, qui active la glande thyroïde, ou la thyroïdite d'Hashimoto, qui détruit la glande thyroïde (**Paiano, 2012**).
- ✓ Les **hépatopathies auto-immunes** : qui touchent le foie (**Paiano, 2012**).
- ✓ Le **diabète de type 1**, souvent dû à une destruction auto-immune des cellules du pancréas qui produisent l'insuline (**Paiano, 2012**).
- ✓ La **maladie de Biermer** : qui touche l'estomac (**Paiano, 2012**).
- ✓ La **sclérose en plaque** : qui touche le système nerveux central, en particulier le cerveau (**Paiano, 2012**).
- ✓ La **polymyosite et dermato-polymyosite** : est une myopathie inflammatoire ou coexistent des infiltrats inflammatoires de l'interstitium et altérations dégénératives des fibres musculaires (**Devulder et al, 1986-1996**).
- ✓ Les **maladies bulleuses de la peau** : c'est une maladie due a des auto-anticorps spécifiques de certains antigènes de la membrane basale dermo-épidermique ou de la substance interstitielle de la peau (**panvert et al., 1991**).
- ✓ **Vitiligo** : consiste en zones cutanées dépigmentées, distribuées n'importe où sur le corps.ces changements résultent de la perte de mélanocytes épidermiques due à un processus qui peut être auto-immune (**ponvert et al., 1991**).
- ✓ **Uvéite auto-immune** : c'est l'inflammation de l'uvée qui peut survenir comme infection purement oculaire ou comme manifestation d'une maladie systémique (**Devulder et al., 1986-1996**).
- ✓ **Cytopénie auto-immune** : il s'agit de maladies caractérisés par la diminution de certains éléments figurés du sang, et qui sont dues à une production anormale d'auto-anticorps anti-érythrocytaire, anti-leucocytaires ou antiplaquettaires (**ponvert et al., 1991**).
- ✓ **Myasthénie** : c'est une altération de la transmission du nerf au muscle à la jonction neuromusculaire.la transmission est inhibée par des anticorps dirigés contre les récepteurs de l'acétylcholine dans la membrane poste synaptique du muscle (**ponvert et al., 1991**).

Les maladies non spécifiques d'organe où la distribution des auto-antigènes est ubiquitaire et la formation de complexes immuns circulants aboutit à une maladie systémique avec des atteintes diffuses et polymorphes sont à titre d'exemple :

- ✓ **Le lupus systémique** : est une maladie caractérisée par une atteinte inflammatoire pouvant toucher de nombreux organes : peau, articulations, reins, poumons et système nerveux (**Devulder et al., 2002**).
- ✓ **Le syndrome de Gougerot-Sjögren** : est défini par la réunion d'au moins deux des critères suivants : xérostomie, xérophtalmie, connectivite ou maladie auto-immune (**Devulder et al., 1986-1996**).
- ✓ **La polyarthrite rhumatoïde** : c'est un rhumatisme qui touche électivement les articulations périphériques. Il est caractérisé par une destruction articulaire résulte d'une synovite responsable de la dégradation des cartilages et des os (**Devulder et al., 2002**).
- ✓ **La sclérodermie** : un ensemble d'affections ayant en commun une induration scléreuse des téguments (**Devulder et al., 1986-1996**).
- ✓ Les **connectivites** : qui sont des maladies auto-immunes atteignant le tissu conjonctif, tissu de soutien présent dans tous les organes (**Paiano, 2012**).
- ✓ **La vascularite primitive** : sont des affections caractérisées par une atteinte inflammatoire systémique des parois vasculaires et du tissu conjonctif péri-vasculaire (**Devulder et al., 1986-1996**).
- ✓ **La polychondrite atrophiante** : c'est une affection grave et rare, caractérisée par une atteinte inflammatoire chronique touchant surtout les cartilages extra-articulaire (**Devulder et al., 1986-1996**).

I-3-Hépatite auto-immune

Le terme «hépatite auto-immune» a été établi par Mackay et al. Lors d'une conférence internationale en 1965 (**Mackay et al 1965**).

Entre les années 1970 et 80, on a identifié plusieurs anticorps chez les patients atteints d'HAI dirigés contre des protéines solubles du foie. Plus tard, les différents auto-antigènes ciblés par les auto-anticorps ont pu être mis en évidence (**Yang, 2010**).

I-3-1- Pathogenèse :

L'HAI peut survenir à tout âge, mais elle est avant tout une maladie pédiatrique. En effet, 40% des cas diagnostiqués d'HAI de type 1 surviennent avant l'âge de 18 ans et ce pourcentage monte jusqu'à 80 % dans le cas d'HAI de type 2. Une prédominance féminine est aussi notée dans l'HAI de l'ordre de 3 à 4 :1 pour l'HAI de type 1 et de 8 à 9 : 1 pour le type 2 (**Gregorio et al., 1997**).

L'HAI est une maladie chronique progressive du foie dont l'étiologie reste encore inconnue à ce jour.

Cependant, cette maladie est multifactorielle impliquant des facteurs génétiques et environnementaux. Elle est caractérisée par une perte de tolérance envers certaines protéines du foie menant à des infiltrations lymphocytaires qui causent la destruction du parenchyme hépatique (**Summerskill et al., 1975**).

L'évolution de la maladie est très fluctuante passant par des périodes d'activation et de rémission (**Beland et al., 2009**).

I-3-2- Types d'hépatite auto-immune :

Actuellement, l'identification des différents auto-anticorps présents dans le sérum des patients et la caractérisation exacte des différentes cibles antigéniques permet de classer les HAI en deux types principaux : HAI de type 1 et HAI de type 2 (**Beland et al., 2009**).

I-3-2-1- Hépatite auto-immune de type 1 :

L'HAI de type 1 est caractérisée principalement par la présence de deux types d'auto-anticorps non spécifiques qui peuvent reconnaître plusieurs composants cellulaires.

Les auto-anticorps anti-noyau (ANA) ont été le premier à être décrit (**Cowling et al., 1956**).

Il est dirigé contre plusieurs composants du noyau dont l'ADN double brin, les chromatines, les ribonucléoprotéides, et les lamines A, B et C. Un autre anticorps présent chez les patients atteints d'HAI de type 1 est l'anticorps anti-muscle lisse (SMA) (**Johnson et al., 1965**).

La cible principale du SMA est le filament d'actine au niveau des fibres musculaires lisses (**Andersen *et al.*, 1976**).

D'autres auto-anticorps peuvent aussi être retrouvés et servent pour la plupart des cas à aider l'identification de l'HAI de type 1. Parmi ceux-ci, nous retrouvons les auto-anticorps anti-cytoplasme de neutrophiles (anti-ANCA) et les auto-anticorps contre le récepteur de l'asialoglycoprotéine (anti- α SGP-R). Le récepteur de l'asialoglycoprotéine est une glycoprotéine spécifique du foie localisée au niveau des membranes cellulaires du parenchyme hépatique (**Poralla *et al.*, 1991**).

I-3-2-2-Hépatite auto-immune de type 2 :

Dans le deuxième type d'HAI, des auto-anticorps plus spécifiques sont retrouvés et dont les auto-antigènes sont identifiés et bien caractérisés. L'anticorps anti-microsome de type 1 (anti-LKM1) est l'auto-anticorps spécifique pour l'identification de l'HAI de type 2. L'auto-antigène de l'anti-KM1 a été identifié comme étant le cytochrome P450 2D6 (CYP2D6) (**Gueguen *et al.*, 1991**).

L'anticorps anti-cytosol de type 1 (anti-LC1) est considéré comme un marqueur secondaire de l'HAI de type 2 (**Muratori *et al.*, 2001**).

Il est dirigé contre la formiminotransférase cyclodéaminase (FTCD), une enzyme cytosolique impliquée dans la conversion de l'histidine en acide glutamique (**Lapierre *et al.*, 2003**).

I-3-3-Mise en évidence des HAI:

L'identification de la maladie est difficile car plusieurs signes cliniques et biochimiques se manifestent de façon hétérogène et confondante. En effet, lors de la manifestation de la maladie, le patient peut montrer des symptômes non-spécifiques tels que la fatigue, l'anorexie, léthargie, des douleurs abdominales et la nausée. Le médecin doit soupçonner la présence d'HAI lorsqu'il y a présence d'hépatomégalie, de splénomégalie et d'ictère (**Gregorio *et al.*, 1997**).

Comme dans toute hépatite, il existe une augmentation de l'activité des transaminases (d'intensité très variable) et parfois de la bilirubinémie. On peut assister à une augmentation, très fréquente mais non constante, de la concentration sérique des

gammaglobulines, en particulier de type IgG. Le signe biologique essentiel est toutefois la présence d'auto-anticorps. Pour les adultes, il s'agit essentiellement des anticorps anti-noyaux, anti-muscles lisses et moins souvent anti-microsomes de type 1 (anti-LKM1) et anti-cytosol (anti-LC). Les deux premiers anticorps sont souvent associés. Les anticorps anti-LKM1 sont plus souvent retrouvés chez l'enfant ou l'adulte jeune (**Gregorio et al., 1997**).

Les HAI sont caractérisées par des lésions nécrotico-inflammatoires à prédominance périportale.

L'infiltrat inflammatoire est lympho-plasmocytaire. Des signes de régénération et de désorganisation des travées hépatocytaires, en particulier sous forme de « rosettes », peuvent être présents. En outre, l'examen histologique apprécie l'importance de la fibrose, (une cirrhose peut être présente dès la première biopsie), et contribue à éliminer d'autres causes ou, au contraire, à suggérer l'existence d'une autre hépatopathie (éventuellement associée dans le cadre d'un overlap syndrome)(**Gregorio et al., 1997**).

I-4- La cirrhose biliaire primitive :

La première description clinique de la cirrhose biliaire primitive (CBP) est due à Addison en 1851 et l'origine hépatique de la maladie a été établie par Hanot en 1876 (**hanot, 1876**).

Les auto-anticorps anti-mitochondries(AMA) sont étroitement associés à la cirrhose biliaire primitive, principalement dans leur spécificité anti-M2 (anti-pyruvate déshydrogénase). Cette association a été décrite à l'origine par Walker en 1965. Depuis, la spécificité de ces auto-anticorps a été affinée et une classification a été proposée (**Walker et al., 1965**).

La lésion des canaux biliaires a été identifiée en 1965 par Schaffner et Popper (**Rubin et al., 1965**).

I-4-1-Pathogenèse :

La cirrhose biliaire primitive (CBP) est une maladie chronique du foie d'étiologie inconnue, affectant principalement la femme d'âge moyen. Elle est caractérisée sur le

plan histologique par une inflammation et une destruction progressive des petits canaux biliaires intra-hépatique (**kaplan, 1996**).

La destruction progressive des canaux conduit à une altération fonctionnelle croissante du foie et, au cours du temps, à une insuffisance hépatique qui nécessite une transplantation hépatique (**Talwarker et Lindor, 2003**).

Sur le plan sérologique, elle est caractérisée par la présence dans le sérum d'anticorps anti-mitochondries (AMA) (**Corpechot, 2009**).

Les AMA de type M2 (AMA2) sont le principal stigmate immunologique de la CBP. Ces anticorps sont dirigés contre certains déterminants antigéniques du complexe enzymatique de la 2 oxo-acide déshydrogénase situé au niveau de la membrane interne des mitochondries (**Jorde et al., 1986**).

I-4-2-Mise en évidence :

Dans sa forme la plus typique, la cirrhose biliaire primitive se manifeste par une asthénie et un prurit, sans ictère. Il n'y a pas de lésions cutanées initialement, mais des lésions dues au grattage peuvent apparaître secondairement. Un amaigrissement progressif est fréquent. Les phosphatases alcalines et la gammaglutamyl-transférase sont nettement augmentées. Une augmentation des transaminases $\geq 5N$ doit faire discuter le diagnostic d'overlap syndrome ou médicamenteuse associés. Par ailleurs, les examens morphologiques ne montrent pas d'anomalies des voies biliaires (**Corpechot, 2009**).

Actuellement, la maladie est souvent reconnue en l'absence de signes cliniques soit parce que des tests hépatiques ont été effectués pour une raison indépendante, soit parce qu'une recherche systématique d'affection associée à une connectivite a été effectué (**Valla et al., 2006**).

Les dosages sérologiques sont des auxiliaires importants dans l'identification de la CBP car de nombreux anticorps associés à la CBP sont présents avant que les symptômes deviennent évidents (**Metcalf et al., 1996**).

I-5-Auto-anticorps du foie :

La découverte des premiers auto-anticorps date de 1904, mais c'est à partir de 1957 avec l'utilisation de la technique d'immunofluorescence mise en point par Coons en 1950 que se développe leur recherche (**Humbel, 2000**).

Les principaux marqueurs d'intérêt dans l'identification des hépatopathies auto-immunes sont les anticorps anti-mitochondrie de type 2 (M2), les anticorps anti-muscle lisse de spécificité anti-actine, les anticorps anti-liverkidney micrososome de type (LKM1) et les anticorps anti-cytosol hépatique de type1 (LC1). Du fait de leur détection en immunofluorescence indirecte sur coupe de tissus, ces auto-anticorps ont été improprement appelés anticorps anti-tissus (**Johant et Ballot, 2006**).

I-6-Types d'auto-anticorps du foie :

I-6-1-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 spécifiques d'organe, donnée par les sérums de patients atteints de cirrhose biliaire primitive. Deux ans plus tard, Berg et al démontraient que ces auto-anticorps réagissaient avec le feuillet interne des mitochondries (**Gajdusek, 1957**).

Les anticorps anti-mitochondries les plus fréquemment rencontrés sont de type M2. Ils sont révélés et dosés en routine par immunofluorescence sur des coupes de foie, de rein et d'estomac de rat ou de souris. On parle de « triple substrat », dans lesquelles les anticorps se fixent sur le cytoplasme des cellules riches en mitochondries. L'antigène cible est le plus souvent une sous-unité de 70 kD du pyruvate déshydrogénase. Un titre supérieur ou égal à 1/40 est considéré comme significatif pour la CBP (**Jorde et al., 1986**).

Il s'agit donc d'auto-anticorps non spécifiques d'organe qui sont, cependant, très spécifiques d'une maladie auto-immune limitée au foie (**Association des Collèges des Enseignants d'Immunologie des Universités de Langue française, 2010-2011**).

En dehors des auto-anticorps anti-mitochondries de type 2 (AMA2), trois autres types d'auto-anticorps anti-mitochondries (AMA) (AMA4, AMA8, AMA9) ont été décrits au cours de la CBP. Les déterminants antigéniques de ces anticorps n'ont pas été caractérisés. Leur spécificité n'a pas été validée et leur prévalence au cours de la maladie semble faible (<20%) (**Dubel et al., 1995**).

A ce jour, il existe 10 types d'auto-anticorps anti-mitochondries (M1, M2... M10) (tableau 1) (**Johanet et Ballot, 2006**).

Tableau n°1 : les différents types d'anticorps anti-mitochondries (**valla et al., 2006**).

Auto-anticorps	ère description	Auto-antigène	Maladies associées
Anti-M1	D.J.M. Wright, 1970 [8]	Cardiolipide	Syphilis
Anti-M2	J.G. Walker, 1965 [5]	Pyruvate déshydrogénase	Cirrhose biliaire primitive
Anti-M3*	P.J. Grob, [9]	?	Pseudo-lupus (venocuran®)
Anti-M4**	P.A. Berg, [10]	Sulfite -oxydase ?	Cirrhose biliaire primitive sévère ?
Anti-M5	M.T. Labro, 1978 [11]	?	Syndrome des anti-phospholipides
Anti-M6	J.C. Homberg, 1982 [12]	Monoaminoxidase B	Hépatite à l'iproniazide
Anti-M7	R. Klein, 1984 [13]	Flavoprotéines	Cardiomyopathies
Anti-M8**	P. Weber, 1986 [14]	?	Cirrhose biliaire primitive sévère ?
Anti-M9**	R. Klein, 1988 [15]	Glycogène phosphorylase ?	Cirrhose biliaire primitive précoce ?
Anti-M10	J.C. Homberg, 1999 [16]	?	Cirrhose biliaire primitive

I-6-2-Anticorps anti-muscle lisse:

Les anticorps anti-muscle lisse ont été décrits en 1965 par Johnson dans les sérums de patients atteints d'hépatite chronique active, en utilisant l'immunofluorescence indirecte sur des coupes d'estomac de rat. L'aspect de fluorescence polygonal du foie a ensuite été décrit par Farrow en 1971. En 1973, Gabbiani identifiait l'antigène cible comme étant l'actine(**Johnson et al., 1965**).

Les anticorps anti-muscles lisses les plus intéressants en clinique sont les anticorps anti-actine qui, à un titre supérieur ou égal à 80, sont très spécifiques des hépatites chroniques auto-immunes en particulier de type 1 avec une grande sensibilité. On les

détecte par immunofluorescence sur « triple substrat » où ils se fixent sur les muscles lisses des vaisseaux sanguins (**Association des Collèges des Enseignants d'Immunologie des Universités de Langue française, 2010-2011**).

Les anticorps SMA sont dénommés ainsi en raison de leur marquage des fibres musculaires lisses (**Bottazzo et al., 1965**).

Ces anticorps sont très hétérogènes et réagissent avec différents composants du muscle lisse (actine, vimentine, desmine, etc.) (**Johanet et Bellot, 2006**).

I-6-3-Anticorps anti-Liver/ Kideny microsome:

Les premiers anticorps anti-LKM (anticorps anti-LKM1) ont été décrits en 1973, indépendamment par Rizzetto et al dans les sérums de patients atteints d'hépatite auto-immune de type 2, grâce à un aspect de fluorescence différent de celui observé avec les anticorps anti-mitochondries précédemment décrits (**Rizzetto et al., 1973**).

L'antigène LKM1 est localisé dans la fraction de microsome du foie et du rein. La cible antigénique principale est le cytochrome CYP2D6 de 50 kDa. Ils définissent les HAI de type II mais sont également rencontrés au cours des hépatites virales C. Dans ce cas, ils reconnaissent des épitopes de la molécule CYP2D6 différents de ceux de l'HAI de type II (**Duclos et al., 2005**).

Tableau n°2: les différents types d'anticorps anti-LKM (Johanet *et al.*, 2006) :

Anticorps	ère description	Auto-antigène	Maladies associées
Anti-LKM1	M. Rizzetto, 1973 [23]	CYP2D6	Hépatite auto-immune de type 2 Hépatite virale C
Anti-LKM2*	J.C. Homborg, 1984 [27]	Cyp2C9	Hépatite à l'acide tiénique
Anti-LKM3	O. Crivell, 1983 [28] transferase	UDP-glucuronosyl	Hépatite virale D
Anti-"LKM1 like"	J.G. Kenna, 1987 [30] M.G. Clemente, 1990 [31]	CYP2E1 CYP2A6	Hépatite à l'halothane Syndrome polyglandulaire auto-immun de type 1

I-6-4-Anticorps anti-cytosol hépatique LC1 :

Les anticorps anti-LC1 ont été décrits pour la première fois en 1987 par Martini dans les sérums de patients atteints d'hépatite auto-immune de type 2 (**MARTINI *et al.*, 1988**).

L'anticorps anti-cytosol de type 1 (anti-LC1) est considéré comme un marqueur secondaire d'HAI de type 2 (**Roland Yang, 2010**).

Il est dirigé contre la formiminotransférase cyclo-désaminase (FTCD), une enzyme cytosolique impliquée dans la conversion de l'histidine en acide glutamique (**Muratori *et al.*, 2001**).

Chapitre II :
Matériel et
Méthodes

Type d'étude :

Il s'agit d'une étude prospective réalisée sur 86 patients qui présentent des signes cliniques en faveur d'une hépatopathie auto-immune (ictère, arthralgies, etc.) soit l' HAI ou la CBP provenant de différents services de l'hôpital central universitaires (CHU de Beni Messous) et de services externes sur une période de 6 mois allant de 05 janvier à 09 juin 2016.

Objectifs :

- recherche des auto-anticorps du foie par la technique de l'IFI et leurs identifications par la technique d'ELISA.
- Rechercher la présence des auto-anticorps du foie en faveur des signes cliniques d'une hépatopathie auto-immune.

II-1-Matériel biologique

II-1-1-Echantillon:

Toutes nos manipulations ont été faites sur des sérums humains.

II-1-2-Population étudiée:

II-1-1-population étudiée :

Notre travail a été effectué sur 86 patients répartis en deux groupes composés de 62 femmes et 24 hommes âgés de 1 à 90 ans. Les patients sont soumis à un questionnaire dont le contenu est illustré dans la fiche de renseignements (**annexe 1**).

Ces patients ont subi des dosages immunologiques.

II-1-3-Prélèvements :

Les dosages immunologiques sont réalisés par ponction veineuse sur des tubes secs.

II-2-Méthodes

II-2-1-Immunofluorescence indirecte (IFI):

-Principe:

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 (auto- antigène 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 auto-anticorps, 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 faiblement fixées 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'ultra-violet. 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 épi-illumination (Goetz et Chevailler, 2005) (fig 4, annexe 2).

-Matériel consommable et réactifs :

- Lame de LKS (fig 5 annexe 3).
- Le diluant PBS (fig 6 annexe 4).
- Les tubes secs.
- Le serum.
- Le tampon.
- Le conjugué IgG (fig7 annexe 5).

-Equipements et appareillage:

- Micropipettes :
 - ✓ 390ul réglable.
 - ✓ 10ul réglable.
- Bac à coloration pour lavage de lame (**fig 8 annexe 6**).
- Agitateur magnétique(**fig 9 annexe 7**).
- Lamelle.
- Chambre noire ethumide.
- microscope à fluorescence (**fig 10 annexe 8**).

-Mode opératoire :

Pour faire se travail on a dilué les sérums à 1 :80 c'est-à-dire 790ul de tampon PBS dilué et 10ul de sérum puis sortir les lames, et on les laisse revenir à température ambiante. On ouvre les sachets de lame et déposer les contrôles et les sérums dilués (35ul).Incuber les lames pendant 25 min à température ambiante. Ensuite rincer les lames rapidement avec du PBS dilué et laver les lames dans un bain de PBS dilué pendant 10min. Sécher les lames à l'étuve pendant 5 à 10 min à 25C.

On dépose une goutte de conjugué universel sur chaque puits et on incube 25mm dans une chambre noire et humide.

Rincer les lames avec du PBS puis laver 5min dans un bain de PBS dilué puis prolonger dans un bain de PBS + le bleu d'Evans pendant 5min.

Sécher les lames dans l'étuve à 25C. On outre déposer une goutte de milieu de montage dans chaque puits puis couvrir la lame par une lamelle. Enfin on a examiné la lame au microscope à fluorescence au grandissement $\times 25$.

-Interprétation des résultats :

Réaction négative : un échantillon est considéré comme négatif si l'intensité de la coloration spécifique décrite ci-dessus, dans la section « réaction positive», est inférieure ou égale à celle du contrôle négatif du système IFI. Les échantillons peuvent afficher divers degré de colorations spécifiques ou de fond par apport aux autres composants cellulaires, mais être négatif aux anticorps IgG anti-actine F.

Réaction positive : un échantillon est considéré comme positif si une coloration spécifique dont l'intensité est supérieure à celle du contrôle négatif du système IFI est observée dans les fibres d'actine F entourant la plupart des cellules selon un modèle hexagonal et parfois observée dans les fibres traversant les cellules.

Déterminer le degré de fluorescence ou d'intensité selon les critères suivants :

- 4+ fluorescences brillantes vertes pomme.
- 3+ fluorescences claires vertes pomme.
- 2+ fluorescences positives pouvant être nettement distinguée.
- 1+ fluorescence spécifique minimale permettant de différencier nettement la coloration de l'actine F de la fluorescence de fond.

II-2-2-ELISA:

-Principe :

Le sérum à tester est mis en contact avec un support solide (microplaque de titration, microparticules...) sensibilisé par l'antigène vis-à-vis duquel est effectuée la sérologie.

Après incubation et lavage, le complexe immunitaire ainsi immobilisé est révélé par l'addition d'Ac anti-immunoglobuline humaine (anti-IgG, IgG-1, IgG-3, IgM, IgA ou Ig totales), appelé conjugué, qui est couplé à un système de révélation de nature enzymatique (*enzyme immunoassay*= EIA ou *enzyme linked immunosorbent assay*= ELISA).

Le substrat de l'enzyme peut être fluorogénique, chimioluminescent ou chromogénique, les effets obtenus étant quantifiés respectivement grâce à un fluorimètre, un luminomètre ou un spectrophotomètre (**Bassignot , 2003**) (**fig 11 annexe 9**).

-Matériel utilisé:

- Plaque microtitration ELISA ActinIgG (12-1×8 puits), avec support (**fig 12 annexe 10**).
- 1,2 ml contrôle ELISA Négatif pré-dilué
- 1,2 ml contrôle ELISA faiblement positif ActinIgG pré-dilué
- 1,2 ml contrôle ELISA fortement positif ActinIgG pré-dilué
- 50 ml diluant HRP pour échantillons
- 25 ml tampon de lavage HRP concentré 40×
- 10 ml conjugué anti-IgG humaines de chèvre
- 10 ml substrat TMB
- 10 ml solution d'arrêt HRP (acide sulfurique 0,344M)
- Pipettes 5,100,200-300 et 500 ul

- Cônes jetables
- Tubes de 4ml pour la dilution de sérum.
- Eau distilléeoudéionisée.
- Récipient de 1 litre pour le tampon de lavage HRP dilué.
- Lecteur ELISA avec filtre de 450 nm (et 620nm pour les lectures à double longueur d'ondes) (**fig 13 annexe 11**).

II-2-2-1-Dosage des anticorps anti-muscle lisse:

-Préparation du test:

1-porter tous les réactifs et échantillons à la température ambiante (20-26°C) et bien les mélanger avant de les utiliser.

2-Diluer la totalité de la solution de lavage (25ml) avec 975 ml d'eau distillée (1/40). La solution de tampon diluée reste stable une semaine à 2-8°C. Si la totalité de la plaque de microtitration n'est pas utilisée en une seule fois, un plus petit volume de tampon sera suffisant, par exemple pour traiter 16 puits, diluer 2ml de tampon concentré dans 78ml d'eau distillée.

3-Préparer les sérums des patients en le diluant au 1/101 dans le diluant d'échantillon (5ul dans 500ul). Les sérums doivent être utilisés dans les 8 heures qui suivent leur dilution. Ne pas diluer les contrôles ELISA fortement en ActinIgG et négatif.

4-La détermination de la présence ou de l'absence de l'Actin en unités arbitraires nécessitent deux puits pour chacun des trois contrôles et un ou deux puits pour chacun des sérums de patients. Il est recommandé de tester les échantillons en double.

-Exécution du test:

D'abord porter tous les réactifs et les échantillons à température ambiante (20-26°C) avant de les utiliser. Placer le nombre nécessaire de micro puits ou de barrettes sur le portoir. Remettre immédiatement les barrettes non utilisées dans la pochette en aluminium avec le dessiccant, fermer hermétiquement pour éviter toute condensation de vapeur d'eau.

Puis distribuer 100ul de chacun des contrôles ELISA fortement positifs IgG, faiblement positifs IgG en ActinIgG et négatifs pré-dilués et de sérums des dilués patients dans les puits. Recouvrir les barrettes et laisser incuber pendant 30 minutes à température ambiante. Le temps d'incubation commence après l'ajout du dernier échantillon et l'étape suivante est le lavage : aspirer le contenu de tous les puits. Ajouter 200-300ul de tampon dilué dans tous les puits et l'aspirer ensuite complètement. Répéter cette opération deux fois supplémentaires pour un total de trois lavages. Après le dernier lavage, retourner la plaque en la tapotant sur du papier absorbant, pour enlever tout liquide de lavage résiduel. Pour l'aspiration, maintenir la même séquence que celle utilisée lors de la distribution des échantillons.

-Distribuer 100ul de conjugué HRP IgG dans chaque puits. Le conjugué doit être prélevé du flacon dans des conditions aseptiques. Prélever en une seule fois la quantité de conjugué nécessaire à la réalisation de la série. Pour éviter le risque de contamination, ne jamais remettre le reste du conjugué non utilisé dans le flacon. Recouvrir les barrettes et incuber pendant 30 minutes à température ambiante, comme décrit à l'étape 2 et pour contenue se travail il faut faire le lavage : aspirer le contenu de tous les puits. Ajouter 200-300ul de tampon dilué dans tous les puits et l'aspirer ensuite complètement. Répéter cette opération deux fois supplémentaires pour un total de trois lavages. Après le dernier lavage, retourner la plaque en la tapotant sur du papier absorbant, pour enlever tout liquide de lavage résiduel. Pour l'aspiration, maintenir la même séquence que celle utilisée lors de la distribution des échantillons.

-Distribuer 100ul de chromogène TMB dans chaque puits et laisser incuber à l'obscurité 30 minutes à température ambiante et ajouter 100ul de solution d'arrêt HRP dans chaque puits. Maintenir le même timing lors de l'addition de la solution d'arrêt que ceux utilisés lors de la distribution du chromogène TMB. Tapoter délicatement les plaques pour bien mélanger le contenu des puits enfin lire la densité optique(DO) de chaque puits à 450nm dans l'heure qui suit l'arrêt de la réaction. Pour une lecture bichromatique, la longueur d'onde de référence peut être 620nm.

II-2-2-3-Dosage des anticorps anti-mitochondries de typeM2:

-Préparation du test:

-porter tous les réactifs et échantillons à la température ambiante (20-60°C) et bien les mélanger avant de les utiliser.

-diluer la totalité de la solution de lavage (25ml) avec 975 ml d'eau distillée (1/40). La solution de tampon diluée reste stable une semaine à 2-8°C. Si la totalité de la plaque de microtitration n'est pas utilisée en une seule fois, un plus petit volume de tampon sera suffisant, par exemple pour traiter 16 puits, diluer 2 ml de tampon concentré dans 78 ml d'eau distillée.

-préparer les sérums des patients en les diluants au 1/101 dans le diluant d'échantillon (5µl dans 500µl). Les sérums doivent être utilisés dans les 8 heures qui suivent leur dilution. Ne pas diluer les contrôles ELISA fortement positifs, faiblement positifs en M2 EP (MIT3) et négatifs.

-la détermination de la présence ou de l'absence de la M2 (MIT3) en unités arbitraires nécessitent deux puits pour chacun des trois contrôles et un ou deux puits pour chacun des sérums de patients. Il est recommandé de tester les échantillons en double.

-Exécution de test:

Avant de commencer, porter tous les réactifs et les échantillons à température ambiante (20-26°C) avant de les utiliser. Placer le nombre nécessaire de micro puits ou de barrettes sur le portoir. Remettre immédiatement les barrettes non utilisées dans la pochette en aluminium avec le desiccant, fermer hermétiquement pour éviter toute condensation de vapeur d'eau puis distribuer 100 µl de chacun des contrôles ELISA fortement, faiblement positifs en M2 EP (MIT3) et négatifs pré-dilués et de sérums dilués des patients dans les puits. Recouvrir les barrettes et laisser incuber pendant 30 mn à température ambiante. Le temps d'incubation commence après l'ajout du dernier échantillon ensuite le lavage: aspirer le contenu de tous les puits. Ajouter 200-300 µl de tampon dilué dans tous les puits et l'aspire ensuite complètement. Répéter cette

opération deux fois supplémentaires pour un total de trois lavages. Après le dernier lavage, retourner la plaque en la tapotant sur du papier absorbant, pour enlever tout liquide de lavage résiduel. Pour l'aspiration, maintenir la même séquence que celle utilisée lors de la distribution des échantillons.

-distribuer 100 µl de conjugué HRP IgG dans chaque puits. Le conjugué doit être prélevé du flacon dans des conditions aseptiques. Prélever en une seule fois la quantité de conjugué nécessaire à la réalisation de la série. Pour éviter le risque de contamination, ne jamais remettre le reste du conjugué non utilisé dans le flacon. Recouvrir les barrettes et incuber pendant 30mn à température ambiante, comme décrit à l'étape 2 et répéter le lavage: répéter la procédure décrite à l'étape 3.

-distribuer 100µl de chromogène TMB dans chaque puits et laisser incuber à l'obscurité 30mn à température ambiante et ajouter 100µl de solution d'arrêt HRP dans chaque puits. Maintenir la même séquence et le même timing lors de l'addition de la solution d'arrêt que ceux utilisés lors de la distribution du chromogène TMB. Tapoter délicatement les plaques pour bien mélanger le contenu des puits et enfin lire la densité optique (DO) de chaque puits à 450nm dans l'heure qui suit la réaction. Pour une lecture bichromatique, la longueur d'onde de référence peut être 620nm.

-Calcul des résultats :

Déterminer d'abord la valeur moyenne des duplicatas. La réactivité de chaque échantillon est calculée en divisant la DO moyenne de l'échantillon par la DO moyenne du contrôle faible et multiplier le résultat obtenu par la valeur (en unités) affectée au contrôle faible.

La valeur en unité est indiquée sur l'étiquette du flacon de contrôle ELISA positif faible en ActinIgG.

Valeur de l'échantillon=DO de l'échantillon /DO du contrôle faible × valeur du contrôle faible (unité).

La réaction n'évolue pas de manière linéaire en fonction de la quantité d'anticorps présents dans le sérum.

L'augmentation et la diminution de la concentration d'anticorps se traduisent par une augmentation ou une diminution de réactivité correspondante mais ces modifications

du signal ne sont pas proportionnelles (par exemple un doublement de la quantité d'anticorps ne fera pas doubler le signal). Pour une évaluation quantitative rigoureuse des anticorps des patients, il faudra réaliser des dilutions sériées du sérum.

Dans ce cas, la dernière dilution du sérum qui donne encore un signal positif sera considéré comme étant le titre en anticorps du patient.

-Interprétation des résultats :

Les échantillons peuvent être interprétés comme négatifs, faiblement ou modérément ou fortement positif selon les valeurs en unités détaillées ci-dessous :

Négatif <20

Faiblement positif 20-30

Modérément ou fortement positif > 30

1. un résultat positif indique la présence d'anticorps Actin et la possibilité de maladie auto-immune du foie tel que l'hépatite chronique active auto-immune (HCA).
2. un résultat négatif indique l'absence d'anticorps anti-Actin ou bien un taux d'anticorps en dessous de la valeur seuil.

Chapitre III :

Résultats

Résultats:

Nous avons étudié 86 malades qui ont des auto-anticorps spécifiques des hépatopathies auto-immunes.

Tableau n°3: Résultats des patients avec une atteinte hépatique et sans atteinte hépatique.

	nombre	pourcentage
Total	86	100%
patients avec une atteinte hépatique	37	43,03%
patients sans atteinte hépatique	49	56,97%

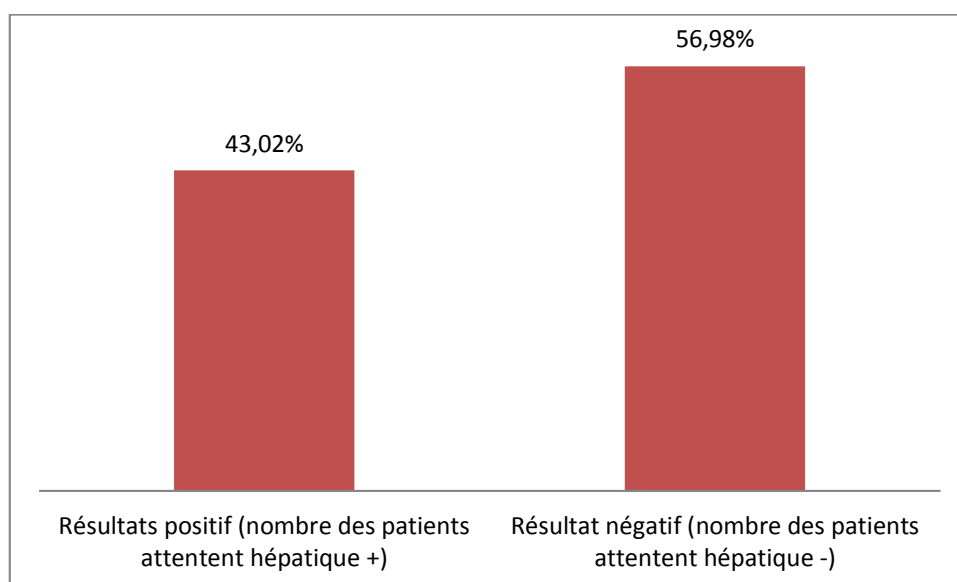


Figure14: représentation graphique selon la présence ou non d'une atteinte hépatique auto-immune.

Sur les 86 patients qui ont des auto-anticorps spécifiques des hépatopathies auto-immunes, 37 (43, 03%) patients avaient des signes cliniques en faveur d'une hépatopathie auto-immune et 49(56, 97%) n'avaient aucun signe clinique en faveur d'une hépatopathie.

III-1-Echantillonnage :

Nous avons étudié les patients qui ont des auto-anticorps du foie positifs avec une atteinte hépatique auto-immune selon le sexe et l'âge.

II-1-1-La répartition selon le sexe :

Sur les 37 patients avec une hépatopathie auto-immune, 23(62.16%) sont de sexe féminin et 14(37.84%) sont de sexe masculin.

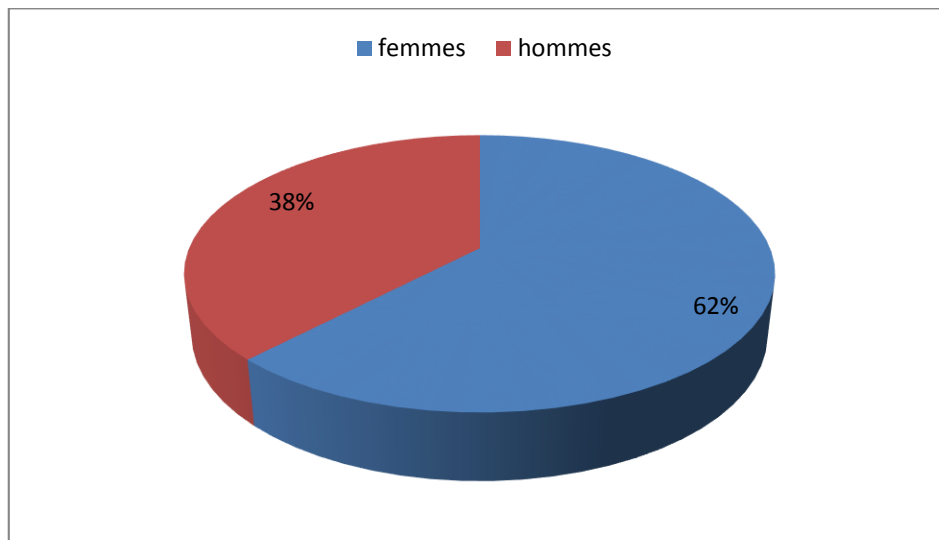


Figure 15: la répartition des maladies auto-immunes du foie selon le sexe.

Nos résultats montrent que les hépatopathies auto-immunes semblent être prédominantes chez les femmes (62%) que les hommes (38%).

III-1-2-La répartition selon l'âge :

La figure représente la répartition des 37 patients selon l'âge :

- 16.22% d'individus âgés de 0 à 20 ans.
- 18.92% d'individus âgés de 20 à 40 ans.
- 40.54% d'individus âgés de 40 à 60.
- 24.32% d'individus ont plus de 60 ans.

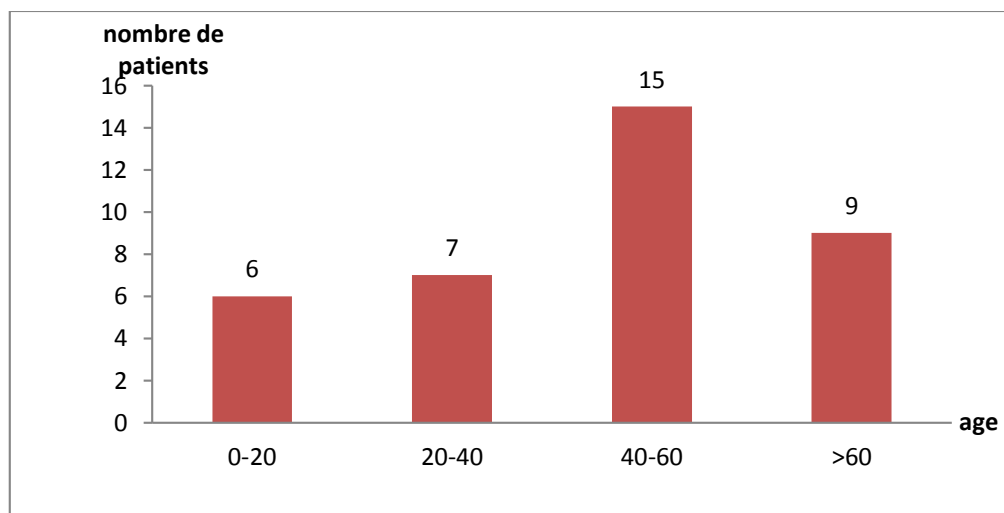


Figure 16: la répartition des maladies auto-immunes du foie selon l'âge.

Les hépatopathies auto-immunes (HAI ou CBP) peuvent débuter à tout âge, mais elles sont plus fréquentes entre 40 et 60 ans.

III-2-Résultats des examens d'auto-immunité

III-2-1-Aspects des AMA 2 par IFI sur LKS :

Sur le foie : fluorescence peu intense, granitée, cytoplasmique des hépatocytes. Les canaux biliaires sont faiblement marqués.

Sur le rein : fluorescence granitée prédominant au niveau du cytoplasme des tubules distaux du rein.

La fluorescence des tubules proximaux est légèrement inférieure.

Sur l'estomac : la fluorescence prédomine de façon très nette sur les cellules pariétales ; les cellules principales sont très faiblement marquées.

L'existence de fines stries dans le tissu musculaire lisse est un signe très évocateur.

III-2-2-Aspects des SMA par IFI sur LKS:

a) sur estomac: marquage de la musculature et de la musculature muqueuse.

b) sur foie: Ac antinucléaire(aspect homogène) associé à un **Ac anti-muscle lisse de spécificité anti-actine** (aspect polygonal du foie).

c) sur rein: marquage des spicules péri tubulaires.

III-3-Résultats de la recherche des auto-anticorps par IFI :

Les résultats obtenus chez 86 patients pour la mise en évidence des auto-anticorps du foie par immunofluorescence indirecte et leur conformation par ELISA sont présentés dans le tableau N°4:

Tableau n°4: résultats de la mise en évidence des auto-anticorps du foie:

auto-anticorps	AMA2	SMA
nombre	47(54, 66%)	39(45,34)
HAI		23(58, 98%)
CBP	15(38, 47%)	
absence d'hépatopathie auto-immune	32(86, 08%)	16(41, 02%)

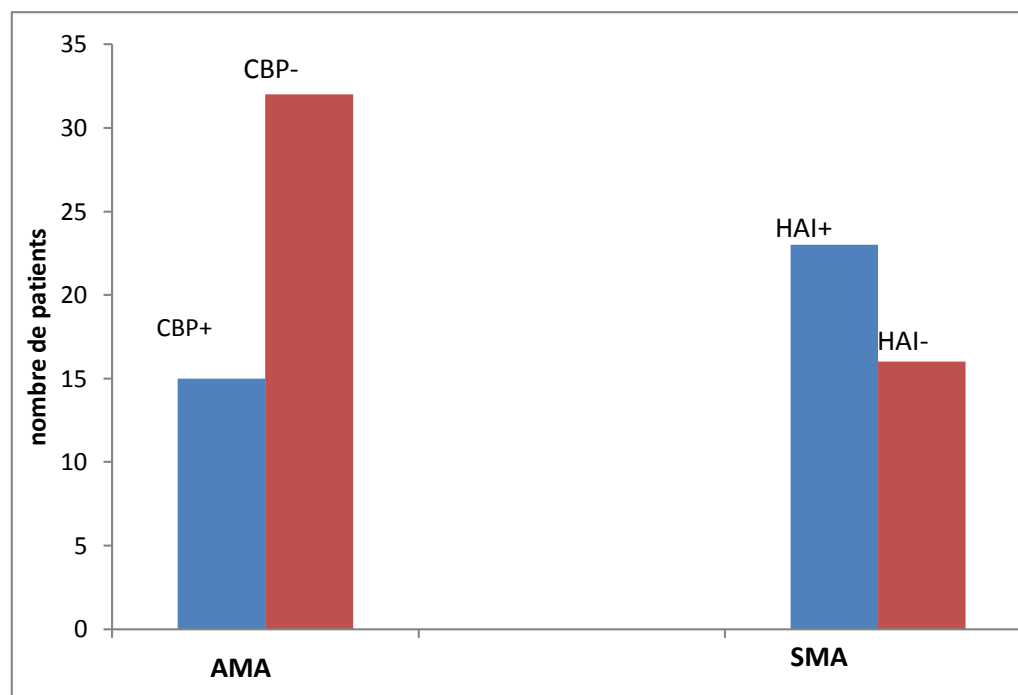


Figure17: représentation graphique des résultats de recherche des auto-anticorps du foie.

Selon les résultats obtenus 47(54.66%) patients ont des AMA. Seulement 15(31.91%) présentent des signes cliniques en faveur d'une CBP et les autres 32(68.08%) présentent des signes généraux de connectivite.

Nous trouvons aussi que 39(45.34%) patients ont des SMA. Parmi ceux 23(58.98%) développent des signes en faveur d'HAI tandis que 16(41.02%) ne présentent pas des signes spécifiques d'HAI.

III-3-1-titrage des SMA :

Les résultats de titrage des SMA par IFI sur triples substrats sont mentionnés dans le tableau n°5.

Tableau n°5: résultats de titrage des SMA

Titres	1/40	1/80	1/100
Nombre	32 (82,05%)	4 (10,25%)	3 (7,7%)
HAI(+)	19 (59,38%)	2 (50%)	2 (66,67%)
HAI(-)	13(40,62%)	2(50%)	1 (33,33%)

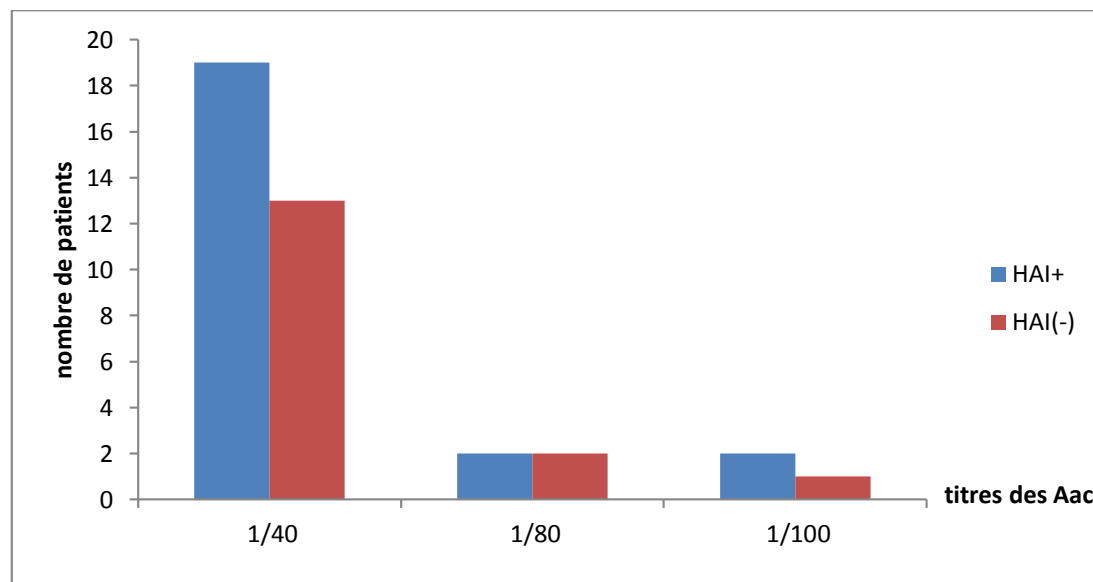


Figure 18: représentation graphique des titres des SMA

Selon les résultats obtenus dans le tableau, on remarque que 82.05% des patients ont des titres égaux à 1/40 et que 59.38% parmi ceux ont une HAI.

Seulement 4(10.25%), 3(7.7%) patients ont des titres égaux à 1/80, 1/100 et que 50% et 66.67% représentent des signes en faveur d'une HAI.

Notre étude montre que le seuil de positivité des SMA est égal à 1/40.

III-3-2-Titrages des AMA2 par IFI:

Les résultats de titrages des AMA2 par IFI sont présentés dans le tableau n°6.

Tableau n°6: résultats de titrage des AMA2 :

TITRES	1/40	1/80	1/100
NOMBRE	37(78,72%)	9(19,14%)	1(2,13%)
CBP +	10(27,03%)	3(33,33%)	1(100%)
CBP -	25(67,56%)	6(66,67%)	0

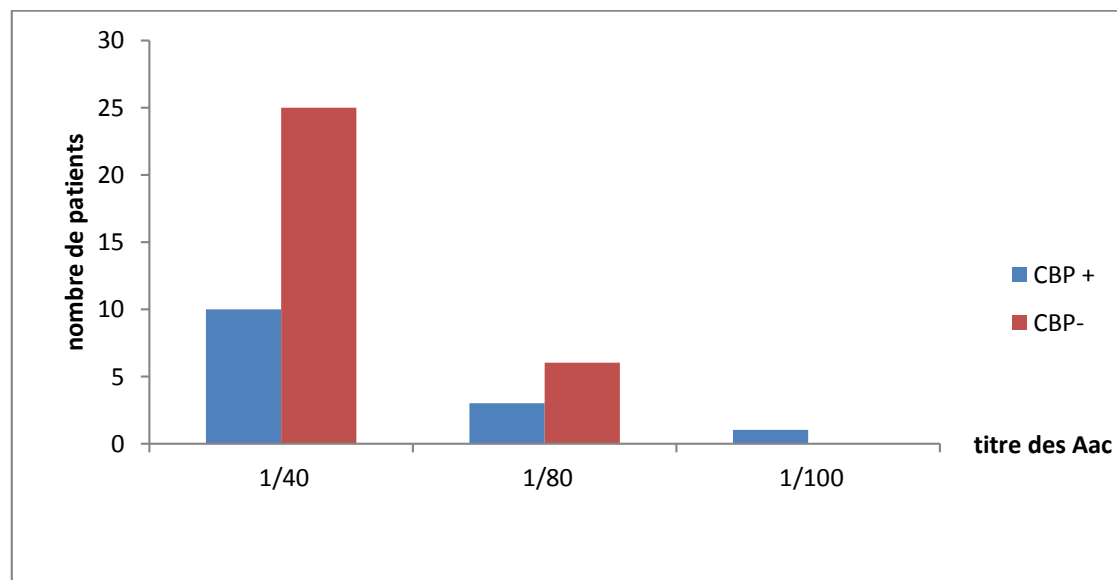


Figure19: représentation graphique des titres des AMA2

Selon les résultats obtenus dans le tableau, on remarque que 37(78,72%) des patients ont des titres de 1/40 et que 10 (27,03%) parmi ceux ont une CBP.

Seulement 9 (19,14%), 1 (2,13%) patients ont des titres égaux à 1/80, 1/100 et que 3 (33,33%) et 1 (100%) parmi ceux représentent des signes en faveur d'une CBP.

Notre étude montre que le seuil de positivité des SMA est égal à 1/40.

La présence d'un titre élevé en auto-Ac anti-M2 ne semble pas être associée à la présence de CBP.

III-4-Signes cliniques:

- ❖ Les signes cliniques pour les patients qui ont des AMA2 positifs sont présentés dans la figure 22.

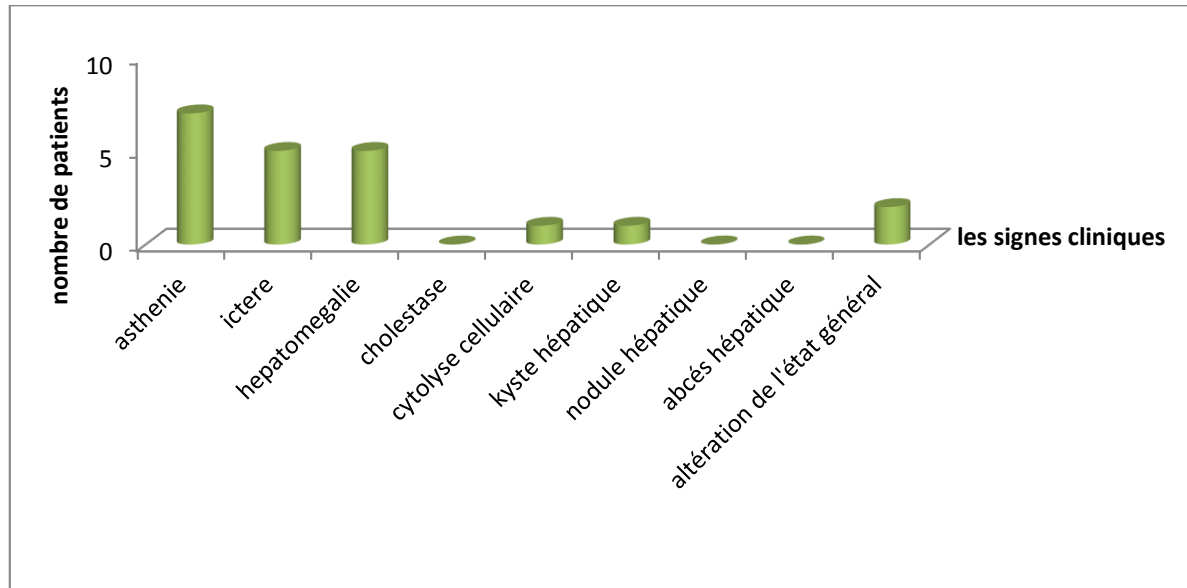


Figure 20: représentation graphique des signes cliniques pour les patients qui ont des AMA2 positifs et qui développent une CBP.

La plupart des malades qui ont des AMA2 positifs, présentent différents signes cliniques d'une CBP tels que l'ictère, choléstase, etc. Mais le symptôme clinique le plus dominant est l'asthénie retrouvée chez 7 patients.

- ❖ Les signes cliniques pour les malades qui ont des SMA positifs sont présentés dans la figure 23.

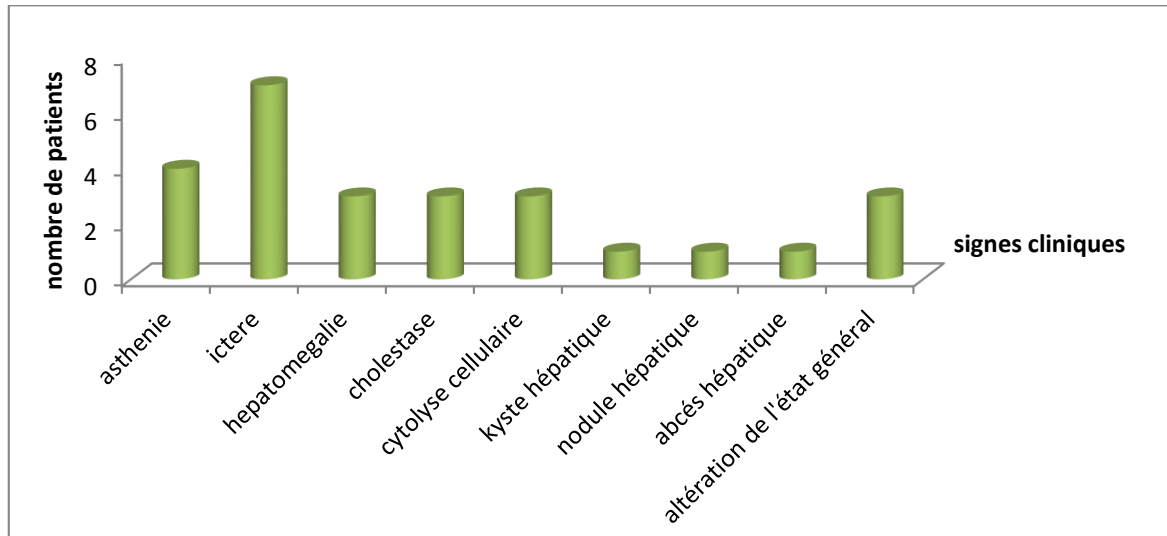


Figure 21: représentation graphique des signes cliniques pour les patients qui ont des SMA positifs et qui développent une HAI.

La plupart des malades qui ont des SMA positifs, présentent différents signes cliniques d'une HAI tels que l'asthénie, choléstase, etc. Mais le symptôme clinique le plus dominant est l'ictère.

Chapitre IV :
Discussion

Discussion :

L'indication majeure de la recherche des auto-anticorps du foie est le diagnostic des principales maladies auto-immunes hépatiques que sont les hépatites auto-immunes, la cirrhose biliaire primitive et les formes mixtes (cirrhose biliaire primitive/hépatite auto-immune).

En effet, la positivité de ces auto-anticorps est l'un des critères de diagnostic d'hépatopathies auto-immunes (**Petitpierre et al., 2013**).

Sur les 86 résultats positifs en IFI, 37 (43,02%) patients ont une clinique en faveur d'une hépatopathie auto-immune et 49(56,98%) patients ne présentent pas des signes d'une hépatopathie auto-immune.

La présence d'auto-Ac est un élément essentiel du diagnostic de CBP et d'HAI. Mais, ne signifie pas nécessairement l'existence d'une maladie auto-immune du foie car peuvent également être mis en évidence chez les patients atteints d'autres maladies auto-immunes telles que le lupus érythémateux disséminé, la polyarthrite rhumatoïde, le syndrome de Gougerot-Sjögren, la sclérodermie et la thyroïdite (**Johanet, 2010**).

Les hépatopathies auto-immunes touchent à la fois les hommes et les femmes, mais il existe une nette prédominance féminine avec un sexe ratio de 2,58 femmes pour 1 homme. En effet, les hormones semblent jouer un rôle essentiel dans le développement des MAI de façon générale (**Dulcos-Vallée et al., 2005**).

L'âge de nos patients varie entre 1 et 90 ans avec âge moyen de survenue de 46 ans.

Les hépatopathies auto-immunes sont habituellement reconnues entre 40 et 60 ans, les extrêmes allant de 30 à 75 ans (**Erlinger et al., 1994**).

L'HAI peut survenir à tout âge, mais elle est avant tout une maladie pédiatrique. En effet, 40% des cas diagnostiqués d'HAI de type 1 surviennent avant l'âge de 18 ans et ce pourcentage monte jusqu'à 80 % dans le cas d'HAI de type 2 (**Gregorio, G.V., et al, 1997**).

Nos résultats des examens de l'auto-immunité pour la recherche des SMA par IFI sur triples substrats rejoignent ceux de **Johanet, (2013)** qui décrivent la présence de la fluorescence au niveau des filaments radicaux dans l'estomac, un aspect réticulé dans

le foie et, surtout la présence de fines aiguilles dans les tubules rénaux et pour la recherche des AMA2 rejoignent par **Johanet et Ballot (2004)** qui décrivent que la fluorescence granitée au niveau du cytoplasme des tubules distaux est le signe révélateur de la présence des AMA de type 2.

Notre étude a démontré que 39(45.34%) malades avaient des SMA et Parmi ceux 30(58.98%) développent des signes en faveur d'HAI tandis que 16(41.02%) présentent d'autres signes.

Les anticorps anti-actine représentent le test de diagnostic de l'hépatite auto-immune de type 1.c'est un test sensible et spécifique.

Selon Johanet, (2010) les SMA ont été mise en évidence dans :

HAI-1 (sensibilité 85%, spécificité 80%) et dans d'autres pathologies hépatiques :

Hépatites virales C, Hépatites médicamenteuses (statines).

Et Pathologies auto-immunes non hépatiques (**connectivites**, maladie cœliaque, thyroïdites, diabète, crohn, Biermer...).

Les SMA de spécificité anti-actine de titre égal ou supérieur au 1/80 caractérisent 95% des cas d'HAI (**Czaja et Donaldson, 2000**).

Selon **Paul Vaillant, (2014)**, L'HAI est diagnostiquée grâce à un ensemble de signes cliniques non spécifiques, tels que l'asthénie (85% des cas), un ictère d'intensité variable (80%), une hépatomégalie (80%) ou des hépatalgies (50%). Dans environ 30% des cas, le mode de présentation est aigu et peut mimer un tableau d'hépatite virale ; dans les autres cas, le début est plus insidieux et la maladie n'est pas reconnue avant un stade très évolué.

Notre étude a démontré que 47(54,65%) patients avaient des auto-anticorps anti-M2 et 15(31,91%) patients parmi ceux présentent la CBP tandis que 32(68,09%) patients avaient une clinique en faveur d'absence de la CBP malgré la positivité des AMA2.

Les auto-anticorps anti-M2 a été mis en évidence principalement dans la cirrhose biliaire primitive, mais également dans de nombreuses pathologies très diverses comme la syphilis, certaines myocardites.....etc (**Johanet et al., 2006**).

La majorité des patients ayant des AMA2 sans aucune anomalie des tests biochimiques hépatiques ont en fait une forte probabilité d'évoluer vers une forme symptomatique de la CBP en une dizaine d'années. Ces patients doivent donc être

considérés comme étant atteints de CBP et doivent être régulièrement surveillés avec un dosage annuel des paramètres biochimiques de choléstase(**Christophe, 2009**).

Un titre supérieur ou égal à 1/40 est considéré comme significatif. Un titre plus faible pourrait être non spécifique et/ou transitoire. Selon les séries et les laboratoires, la sensibilité des AMA2 détectés par IFI au cours de la CBP est de 85 à 95%. Associés à des signes biochimiques de choléstase, leur spécificité est supérieure à 95%.

Selon **Vincent Elsermans, (2012-2013)**, il existe des signes +/- précoces de la CBP qui sont l'asthénie et prurit et des signes tardifs tels que les signes de cirrhose (choléstase...etc).

Conclusion

La détection des auto-anticorps est une aide précieuse au diagnostic des hépatopathies. Ils peuvent également être utilisés comme critères de classification des hépatopathies auto-immunes.

Cependant, leur présence ne signifie pas nécessairement l'existence d'une maladie auto-immune du foie et doit être interprétée en fonction du contexte clinique, des données biologiques ou histologiques de la connaissance des sérologies virales et des prises médicamenteuses.

La technique de l'immunofluorescence indirecte sur foie/rein/estomac de rat permet la détection de l'ensemble des auto-anticorps d'intérêt à l'exception des anticorps anti-soluble liverantigen (anti-SLA). Elle nécessite cependant l'utilisation de techniques de confirmation (ELISA, Dot-blot...) qui se sont considérablement développées grâce à l'identification des principales cibles antigéniques reconnues par ces anticorps qui ne peut qu'améliorer le diagnostic biologique et le développement de nouvelles technologies (cryométrie en flux, puces à auto-antigènes...).

Une meilleure compréhension des mécanismes immunologiques impliqués dans cette pathologie permettra d'obtenir des traitements mieux ciblés et plus efficaces.

Les références bibliographiques

Andersen, P., Small, J.V. et Sobieszek, A. (1976)

Studies on the specificity of smooth-muscle antibodies. Clin Exp Immunol, n°26, p 57-66.

Andrianjafison, F., Rakotomalala, ON., Razanaparany, MMO., Rakotoharivelo, H., Rakotonirainy, OH et Ralandison, S. (2014)

Après-Midi Rhumato, CHU JRB Antananarivo.

Association des Collèges des Enseignants d'Immunologie des Universités de Langue française, 2010-2011.

Bassignot, A. (2003)

Diagnostic des infections virales.

Beland, K., Lapierre, P et Alvarez, F. (2009)

Influence of genes, sex, age and environment on the onset of autoimmune hepatitis. World J Gastroenterol n°15, p 1025-1034.

Bottazzo, G.F., Florn-christensen, A., Fapfax, A., et al. 1976

Classification of smooth muscle autoantibodies detected by immunofluorescence. j clin pathol, n°29, p 403-410.

Czaja, A et Donaldson, P.T. (2000)

Genetic susceptibilities for immune expression and liver injury in auto-immune hepatitis . immunol Rev n°174, p 250-9.

Cowling, D.C., Mackay, I.R. et Taft, L.I. (1956)

Lupoid hepatitis. Lancet n°271, p 1323-1326.

Corpechot, C. (2009)

Diagnostic de la cirrhose biliaire primitive, Journal of hepatology, n°50, p 291-308.

Devulder et al. (1986-1996)

Médecines interne : principe et pratique, n°2, p 28-185.

Devulder et al., 2002

Médecines interne : principe et pratique, n°2, p 45-130.

Drake, R.L & Masson, E. (2011)

Gray's Anatomy for Students, n°2, 978044306952.

Dubel, L., Boulay-Stref, N., Poupon, R., Farges, O., Homberg, J.C., et Johanet, C. (janvier 2007)

The Hopital Saint Antoine and Hopital Paul Brousse experience of anti- M4 and anti-M9 antibodies as TGastroentérologie Clinique et Biologique, Vol 31, n° 1, p 7-9.

Duclos-Vallée, J.C., Ballot, E. et Huguet S, Johanet C. (2005)

Hépatites autoimmunes. Gastroenterol Clin Biol, n° 29, p1236-1243.

Elsermans, V. (2013)

Immuno - DES de Biologie Médicale.

Erlinger, S et Benhamou, J.P. (1994)

La cirrhose biliaire primitive. Revue medecines Sciences, n°05, vol 10, p 528-535.

Gajdusek, D.C. (1957)

An autoimmune reaction againsts human tissus in certain acute and chronic diseases, n°179, p 666-668.

Goetz, J et Chevaller, A. (2005)

Laboratoire d'Immunologie, CHU Hautepierre, 67098 Strasbourg Cedex

Gregorio, G.V., et al. (1997)

Autoimmune hepatitis in childhood: a 20-year experience. Hepatology, n°25, p 541 - 547.

Gueguen, M., Boniface, O., Bernard, O., Clerc, F., Cartwright, T et Alvarez, F. (1991)

Identification of the main epitope on human cytochrome P450IID6 recognized by anti-liver kidney microsome antibody. J Autoimmun, n° 4, p 607-15.

Hanot , V. (1876)

Etude sur une forme de cirrhose hypertrophique du foie. Cirrhose hypertrophique avec ictère chronique. Paris : Baillière.

Humbel, R.L. (juin, 2000)

Historique des auto-anticorps. Colloque GEAI. Spectra Etiologie, p3-6.

Johanet, C. (2010)

Unité d 'Immunologie, CHU Saint-Antoine, Paris.

Johanet, C (2013)

Unité d 'Immunologie, CHU Saint-Antoine, Paris. 4ème réunion des centres de compétence des maladies inflammatoires des voies biliaires.

Johanet, C et Ballot, E. (2004)

Hépatopathies auto-immunes. Biotribune, n°9, p 44-47.

Johanet, C., et Ballot, E. (2006)

Hépatites auto-immunes : pertinence des anticorps anti-SLA et des anticorps anti-LC1. Spectra bio, n°145, p 30-34.

Johnson, G.D., Holborow, E.J. et Glynn, L.E. (1965)

Antibody to smooth muscle in patients with liver disease. Lancet, n°2, p 878-879.

Jorde, R., Rekvig, O., et Bostad, L. (1986)

A follow-up study of 68 patients with antimitochondrial antibodies (AMA). Acta Med Scand, n°220, p 241-247.

Kaplin, M.M. (1996)

primary biliary cirrhosis. N Engl J Med, n°335, p1570-1580.

Lapierre, P. & Alvarez, F. (2007)

[The liver: an organ of the immune system?]. Med Sci (Paris) n°23, p 985-990.

Lapierre, P., Johanet, C. et Alvarez, F. (2003)

Characterization of the B cell response of patients with anti-liver cytosol autoantibodies in type 2 autoimmune hepatitis. Eur J Immunol, n°33, p 1869-1878.

Mackay, I.R., Weiden, S. et Hasker, J. (1965)

Autoimmune hepatitis. Ann N Y Acad Sci, n°124, p 767-780.

Masson. (2014)

Partie I: les organes-chapitre 6: Foie-voies biliaires, p 28-39.

Metcalf, J.V., Mitchison, H.C., Palmer, J.M., Jones, D.E., Bassendine, M.F et James OF. (1996)

Natural history of early primary biliary cirrhosis. *Lancet* n°348, p 1399-402.

Mieli-Vergani, G et Vergani, D. (2011)

Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol. n°8, p 320–329.

Muratori, L., et al. (2001)

Distinct epitopes on formiminotransferase cyclodeaminase induce autoimmune liver cytosol antibody type 1. *Hepatology*, n°34, p 494-501.

Petitpierre, S., Aubert, V., Leimgruber, A., et Spertini, A. (2013)

Bart Revue médicale suisse.

Ponvert, C., Paupe, J et Griscelli, C. (1991)

Immunologie fondamentale et immunopathologie, n°2, p 279-291.

Poralla, T., Treichel, U., Lohr, H. et Fleischer, B. (1991)

The α sialoglycoprotein receptor as target structure in autoimmune liver diseases. *Semin Liver Dis*, n°11, p 215-222.

Rizzetto, M., Swana, G. et Doniach, D. (1973)

Microsomal antibodies in active chronic hepatitis and other disorders. *Clin Exp Immunol*, n°15, p331-344.

Rosenbaum, J., Mavrier, P et Dhumeaux, D. (1991)

médecine/sciences n°7 p7- 110.

Rubin, E.F., Schaffner, F., et Popper, H. (1965)

Primary biliary cirrhosis. Chronic non suppurative destructive cholangitis. Am J Pathol, n° 46, p387-407.

Sheth, K. & Bankey, P. (2001)

The liver as an immune organ. Curr Opin Crit Care n°7, p 99-104.

Summerskill, W.H., Korman, M.G., Ammon, H.V et Baggenstoss, A.H. (1975)

Prednisone for chronic active liver disease: dose titration, standard dose, and combination with azathioprine compared. Gut n°16, p 876-883.

Talwarker, J.A., et Lindor, K.D. (2003)

Primary biliary cirrhosis. Lancet, 362, 53-61.

Valla et al. (2006)

Cahier de formation. Biologie médicale, n°37.

Vaillant, P. (2014)

Centre Hépato-Biliaire - Hôpital Universitaire Paul Brousse - 12-14 avenue Couturier
- F-94800 Villejuif – France

Walker, J.G., Doniach, D., Roitt, I. M., et Sherlock, S. (1965)

Serological tests in diagnosis of primary biliary cirrhosis. Lancet, n°2, p31 -827.

Warren, A., et al. (2006)

T lymphocytes interact with hepatocytes through fenestrations in murine liver sinusoidal endothelial cells. Hepatology, n°44, p 1182-1190.

www.immunologie-allergologie-paiano.ch

Yang, R. (2010)

Développement d'immunothérapies spécifiques pour le traitement de l'hépatite auto-immune de type 2 chez modèle murin, université de Montréal.

Yeomen et al. (2009)

Hepatology, Département de Médecine Interne & Immunologie Clinique.

Annexes :

CHU BENI MESSOUS

SERVICE DE BIOLOGIE MEDICALE

UNITE D'IMMUNOLOGIE

N° du dossier :

FICHE DE DEMANDE DE BILAN D'AUTOIMMUNITE

Nom :..... Prénom :..... Sexe : F M

Date de naissance :..... Adresse/N° de téléphone :.....

Service :..... Date de prélèvement :.....

Nom du médecin traitant :.....

Date de début des manifestations cliniques :

Principales manifestations cliniques :

Altération de l'état général fièvre

Arthralgies Arthrites Myalgies Faiblesse musculaire

Erythème malaire Photosensibilité Livédo Purpura

Phénomène de Raynaud

Péricardite Pleurésie

Atteinte rénale Atteinte pulmonaire

Hépatopathie Troubles digestifs

Syndrome sec Atteinte neurologique Atteinte ORL

Thromboses Avortements

Anémie thrombopénie

Autres :

Diagnostic suspecté :

Traitement :

Examens demandés :

AAN Anti-DNA Antigènes solubles

Anti cardiolipines Anti B2GP1

ACPA FR

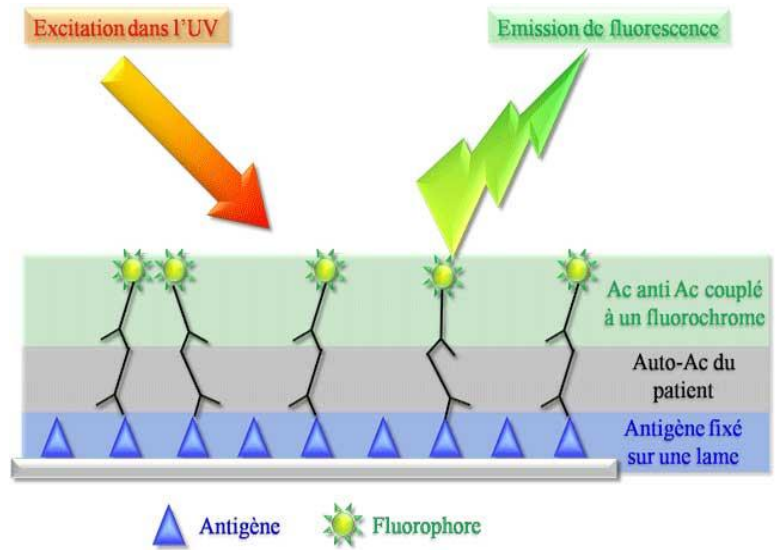
ANCA Anti MBG

Anti mitochondrie Anti muscle lisse Anti LKM Anti cellule pariétale

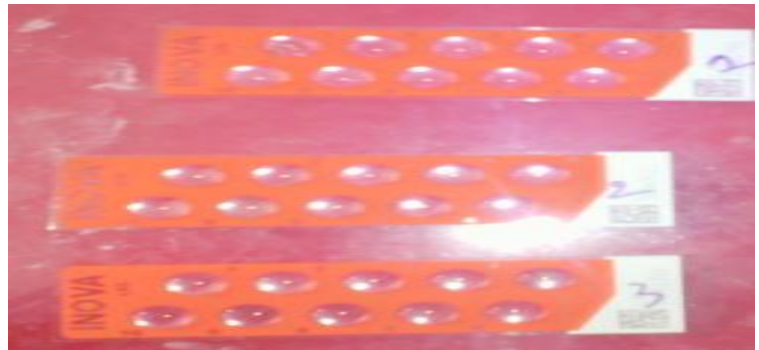
Bilan cœliaque ASCA

Autres :

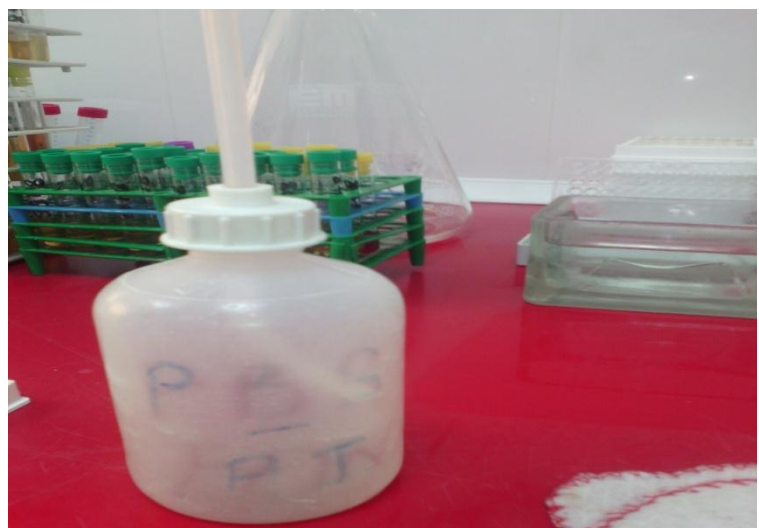
**Annexe 2: principe
d'immunofluorescence indirecte**



**Annexe 3:
Lame de LKS**



**Annexe 4:
Le diluant PBS**



**Annexe 5: Le
conjugue IgG**



**Annexe 6: Bac à
coloration pour
lavage de lame**



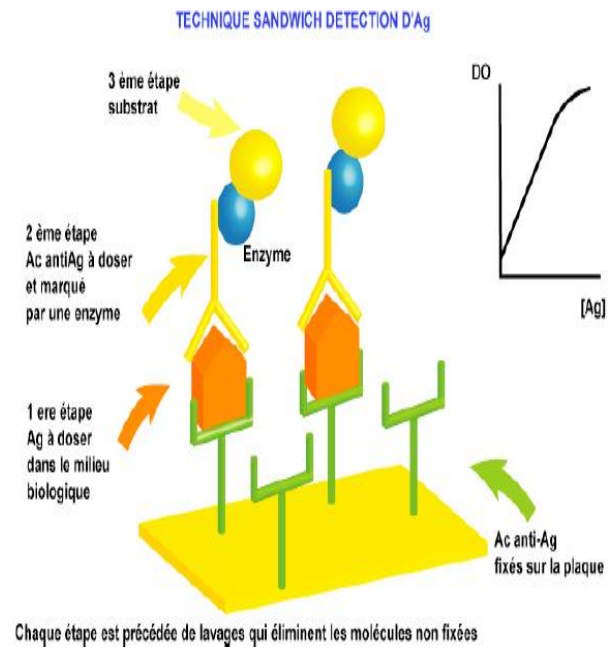
**Annexe 7: agitateur
magnétique**



**Annexe 8 : microscope
à fluorescence**



**Annexe 9: Principe
d'ELISA**



Annexe 10:
Plaque de
microtitration



Annexe 11:
Lecteur ELISA
(spectrophotomètre)



Résultats des dosages immunologiques IFI :Femme

numéro	Age	sexe	Service	Signes cliniques	foie +	LKS	
						AM A	SM A
1134	62	F	pneumo- phtisiologie	arthralgie +pneumopathie interstitielle diffuse+ toux sèche depuis 3 mois	-	1/40	
1369	33	F	rhumatologie	arthralgies+livedo+syndrome sec +anémie +avortement+syndrome de l'antiphospholipide +LED	-		1/40
1658	62	F	rhumatologie	suspections d'hépatopathie auto-immune	+		1/40
1724	66	F	rhumatologie	arthrite+hépatopathie +syndrome sec +syndrome auto immune multiples	+	1/80	
1822	52	F	neurologie	arthralgies +faiblesse musculaire+phénomène Raynaud+vasculrite cérébrale	-	1/40	
1955	56	F	rhumatologie	arthralgies inflammatoires touchent les 2 pigments +MCP-IPP des 2 mains suspicions d'une polyarthrite rhumatoïde	-	1/40	
2229	38	F	chirurgie pédiatrique	asthénie+arthralgies +myalgies +faiblesse musculaire+prurit	-	1/40	
3307	58	F	hépto- gastro- entérologie	asthénie, arthralgie, hépatomégalie, ictère, prurit, cirrhose biliaire primitive	+	1/40	
3859	61	F	externe	thrombopénie+cytolyse+choléstase	+		1/40
3915	21	F	Externe	polyarthrite rhumatoïde	-	1/40	
4051	51	F	Néphrologie	HTA+thyroïdite d'Hashimoto+nodule hépatique+diarrhée chronique (+de 3 semaine) +polyarthralgies	+		1/40
4275	10	F	externe	splénomégalie+anémie hémolytique auto- immune+thrombopénie+hépatite	+		1/40
4362	67	F	médecine interne	arthralgies+asthénie+thrombose+maladie de crohn+thrombose vineuse	-	1/40	
4651	48	F	rhumatologie	arthralgies+faiblesse musculaire+connectivité	-	1/80	
4850	46	F	rhumatologie	arthralgies+arthrites+myalgies+faiblesse musculaire+photosensibilité+phénomène de Raynaud+avortements+connectivité	-	1/40	
5281	23	F	médecine externe	Polyarthrite rhumatoïde	-	1/40	
5549	67	F	médecine externe		-	1/80	
6898	36	F	médecine interne	douleur de l'hypochondre droit +aspect d'hépatopathie chronique	+	1/40	
7580	49	F	gastro- entérologie	Myalgie faiblesse musculaire+ thrombose porte + hépatopathie	+		1/40
8839	63	F	rhumatologie	arthralgies+hépatopathie auto immune+anémie+faiblesse musculaire+thymidite + PR +LES	+		1/10 0
9 022	55	F	hépto- gastro- entérologie	cirrhose hépatique+suspections d'une hépatite auto-immune	+	1/40	
9810	45	F	hépto- gastro- entérologie	hépatite Asat 15*nle, Alat 8*nle	+		1/40
9976	56	F	rhumatologie	polyarthralgies +cytolyse+polyarthrite rhumatoïde	+	1/40	
81	5	F	pédiatre	fièvre+asthénie+hépatomégalie+retard staturo-pondéral+hépatite auto-immune	+		1/80
188	55	F	medecine interne	fièvre+asthénie+arthralgies+hepatomegalie+ictère+prurit+diarhee +malabsorption+erytheme malaire+syndrome sec+foie d'hépatopathie chronique	+	1/40	
632	62	F	pneumo- phtisiologie	fibrose pulmonaire avec excavation	-	1/40	

632	62	F	pneumo- phtisiologie	fibrose pulmonaire avec excavation	-	1/40	
634	62	F	pneumo- phtisiologie	adénopathie médiastinales et abdominales profondes avec lésions interstitielles bilatérales +connectivite	-	1/40	
692	62	F	pneumo- phtisiologie	pneumopathie interstitielle diffuse+macroscopie+sclérodermie	-	1/40	
700	55	F	pneumo- phtisiologie	asthénie+péricardite+pneumopathie interstitielle diffuse+connectivite et vascularite	-	1/80	
709	44	F	neurologie	Vascularite	-	1/80	
1049	1	F	mussy	fièvre+hépatomégalie+ictère	+		1/40
1122	42	F	médecines interne	fièvre+asthénie+altération de l'état général+arthralgies+arthrites +péricardite	-		1/40
1675	49	F	pneumo- phtisiologie	pneumopathie interstitielle bilatérale+syndrome de Raynaud+arthralgie	-		1/40
1724	66	F	rhumatologi e	arthrite+hépatopathie	+	1/80	
	35	F	médecines interne	hépatopathie chronique au stade d'hypertendu fœtal d'origine indéterminée+hépatite auto-immune	+		1/80
2215	56	F	médecines interne	asthénie+altération de l'état général+hépatopathie chronique+hépatopathie dysimmunitaire	+		1/40
2269	39	F	médecines interne	arthralgies+photosensibilité+érythème malaire+nodule thyroïdien+cytolyse+choléstase+maladie auto-immune+LED	-		1/40
2799	46	F	pneumo- phtisiologie	EPL de petite abondance stable	-		1/40
2977	45	F	gastrologie		-		1/40
2991	66	F	médecines interne	asthénie+arthralgie +faiblesse musculaire+ictère +prurit+hépatite auto-immune	+	1/40	
3208	39	F	cardiologie	hépatomégalie+thrombose+asthénie	-		1/40
3502	26 mois	F	pédiatre	diabète type 1	-		+
3633	66	F	hématologie	troubles hépatiques +syndrome de cytolyse +hypochondre		1/80	
3687	53	F	néphrologie	arthralgies+érythème malaire+syndrome sec+anémie	-		1/40
3748	54	F	rhumatologi e	arthralgies+Polyarthrite rhumatoïde	-	1/40	
4085	73	F	hemophilie	asthénie+thrombocyte mie	-		
4135	34	F	médecines interne	fièvre+asthénie+altération de l'état général+phénomène de Raynaud+arthralgies+myalgie+alopecie+vascularite+pericardite+anemie monocytaire normochrome	-	1/40	
4244	45	F	rhumatologi e	polyarthrite +maladie de Raynaud+vs accéléré +connectivite	-	1/40	
4289	25	F	Médecine interne	altération de l'état général+arthralgies+fièvre+syndrome sec+troubles digestifs+anémie+diarrhée+érythème malaire	-		1/40
4523	46	F	chirurgie générale	goitre	-	1/40	
4571	38	F	gastrologie	asthénie, arthralgie, arthrite, prurit, cirrhose biliaire primitive	+	1/40	
4601	47	F	médecine interne	fièvre+arthralgies+myalgies+hepato-mégalie+ictère+diarrhée+hepatite auto-immune+cirrhose biliaire primitive	+	1/80	

4817	50	F	neurologie	arthralgies+myalgie+faiblesse musculaire+photosensibilité+livedo+atteinte neurologique+thrombose+thrombose veineuse superficielle	-	1/40	
4925	73	F	rhumatologie	polyarthrite chronique + syndrome sec, oculo-buccale, gonflement parotidien, + gougeront II aire	-	1/40	
5260	32	F	néphrologie	douleur osseuses diffuse surtout au niveau du bassin myélome multiple	-	1/40	
5285	61	F	rhumatologie	polyarthrite bilatéral et systémique non déformante	-	1/40	
5286	35	F	médecine interne	hépatite auto-immune	+		1/40
5899	56	F	rhumatologie	arthralgie ; arthrite ; phénomène de Raynaud syndrome sec; connectivite	-	1/40	
5939	12	F	rhumatologie	polyarthrite chronique; déficit musculaire proximal; lésion cutanée de dermatomyosite alopecie; altération de l'état générale; bilan hépatique perturbé; dermatomyosite éventuel chevauchement avec un lupus	+		1/40
5973	44	F	neurologie	arthralgie ; myalgies ; phénomène de Raynaud ; syndrome sec ; atteinte neurologique; vascularite	-	1/40	
8521	2 ans	F	rhumatologie	RID	-		1/40
8904	30	F	médecine interne	crohn	-	1/40	

Résultats des dosages immunologiques(IFI) :Homme

numéro	Age	sexe	Service	Signes cliniques	foie +	LkS	
						AM A	SMA
629	57	H	hemophilie	adénopathie cervical et axillaire+syndrome lymphoproliferatif	-		1/40
2016	68	H	médecine interne	hépatopathie chronique cholestatique	+		1/40
2228	40	H	pathologie bucco-dentaire	diarrhée	-	1/40	
5128	13	H	pédiatrie	ictère à bilirubine mixte évoluant depuis 10 ans +syndrome de cytolyse: hépatite A, B, C =-, hépatite auto-immune	+		1/40
8551	74	H	hématologie	aplasie médullaire+syndrome anémique	-	1/40	
8704	23	H	hépatogastro-entérologie-	ictère+hépatite aigue ictérique	+		1/40
3	30	H	médecine interne	asthénie+hépatomégalie +ictère +prurit +thromboses+hépatite auto-immune	+	1/40	
956	56	H	pneumophtisiologie	épanchement pleural liquidien +arthralgies+kystes hépatiques	+	1/100	1/100
1330	57	H	néphrologie	syndrome pneumorenal hémoptysie +glomérulonéphrite +vascularite	-	1/80	
1339	32	H	médecine interne	hépatite+ictère cholestatique+thrombose porte +abcès hépatique multiples+pancréatite chronique+diabète mitochondriale	+		1/40
1758	30	H	médecine interne	altération de l'état général +arthralgies +arthrite+fièvre+myalgie+lupus érythémateux+polyarthrite+spondylarthropathies+vascularite	-		1/80
2226	6 ans	H					1/100
2293	42	H	rhumatologie	asthénie+altération de l'état général+arthralgies+ictère+bulles endobuccales+pâleur cutané-muqueux+épistaxis+maladie de système (sarcoïdose) +syndrome hémorragique+hépatomégalie+splénomégalie+ADP centimétriques abdominales	+		1/40
2502	38	H	néphrologie			1/40	
2518	82	H	médecine interne	asthénie+altération de l'état général+péricardite+pleurésie+hépatopathie chronique+hépatite C	+	1/40	
3188	1	H	pédiatre	hépatomégalie+ictère+retard staturo-pondéral	+		1/40
3221	11	H	pédiatre	asthénie ; ictère, altération de l'état général, retard staturo-pondéral, HIV positive, anémie, leucopénie	-		1/40
4383	56	H	médecine interne	syndrome tumoral profond, splénomégalie+thrombopénie+atteinte hépatique	+		1/40
4395	55	H	médecine interne				1/40
4751	45	H	médecine interne	fièvre+asthénie+altération de l'état général+hépatomégalie+hépatopathie	+	1/40	
4836	74	H	néphrologie	IRA, pneumonie+atteinte digestive	-	1/40	
7007	53	H	neurologie	hépatopathie+troubles digestifs+atteinte neurologique+thrombose	+	1/40	
7517	44	H	gastro-entérologie	syndrome de cytolysé fluctuant	+		1/40
9773	79	H	médecine interne	asthénie +hépatomégalie+ictère+hépatite auto-immune	+		1/40

Résultats des dosages immunologiques ELISA : Femme

numéro	Age	sexe	Service	Signes cliniques	foie +	ELISA	
						AM A	SM A
1134	62	F	pneumo- ptisiologie	arthralgie +pneumopathie interstitielle diffuse+ toux sèche depuis 3 mois	-	21	29
1369	33	F	rhumatologie	arthralgies+livedo+syndrome sec +anémie +avortement+syndrome de l'antiphospholipide +LED	-		20
1658	62	F	rhumatologie	suspections d'hépatopathie auto-immune	+		
1724	66	F	rhumatologie	arthrite+hépatopathie +syndrome sec +syndrome auto immune multiples	+	157	
1822	52	F	neurologie	arthralgies +faiblesse musculaire+phénomène Raynaud+vascularite cérébrale	-	153	
1955	56	F	rhumatologie	arthralgies inflammatoires touchent les 2 pigments +MCP-IPP des 2 mains suspicions d'une polyarthrite rhumatoïde	-	133	
2229	38	F	chirurgie pédiatrique	asthénie+arthralgies +myalgies +faiblesse musculaire+prurit	-	8	
3307	58	F	hépato- gastro- entérologie	asthénie, arthralgie, hépatomégalie, ictère, prurit, cirrhose biliaire primitive	+		28
3859	61	F	externe	thrombopénie+cytolyse+choléstase	+		
3915	21	F	Externe	polyarthrite rhumatoïde	-	110	44
4051	51	F	Néphrologie	HTA+thyroïdite d'Hashimoto+nodule hépatique+diarrhée chronique (+de 3 semaine) +polyarthralgies	+		33
4275	10	F	externe	splénomégalie+anémie hémolytique auto-immune+thrombopénie+hépatite	+		
4362	67	F	médecine interne	arthralgies+asthénie+thrombose+maladie de crohn+thrombose veineuse	-		
4651	48	F	rhumatologie	arthralgies+faiblesse musculaire+connectivite	-	152	
4850	46	F	rhumatologie	arthralgies+arthrites+myalgies+faiblesse musculaire+photosensibilité+phénomène de Raynaud+avortements+connectivite	-	36	
5281	23	F	médecine externe	Polyarthrite rhumatoïde	-	142	
5549	67	F	médecine externe		-	16	
6898	36	F	médecine interne	douleur de l'hypochondre droit +aspect d'hépatopathie chronique	+	31	
7580	49	F	gastro- entérologie	Myalgie faiblesse musculaire+ thrombose porte + hépatopathie			37
8839	63	F	rhumatologie	arthralgies+hépatopathie auto immune+anémie+faiblesse musculaire+thymidite + PR +LES	+		
9022	55	F	hépato- gastro- entérologie	cirrhose hépatique+suspections d'une hépatite auto-immune	+	1,4	9
9810	45	F	hépato- gastro- entérologie	hépatite Asat 15*nle, Alat 8*nle	+		
9976	56	F	rhumatologie	polyarthralgies +cytolyse+polyarthrite rhumatoïde	+	41	12
81	5	F	pédiatre	fièvre+asthénie+hépatomégalie+retard staturo-pondéral+hépatite auto-immune	+		
188	55	F	médecine interne	fièvre+asthénie+arthralgies+hepatomegalie+ictère+prurit+diarhée+malabsorption+erythème malaire+syndrome sec+foie d'hépatopathie chronique	+	40	

632	62	F	pneumo- phtisiologie	fibrose pulmonaire avec excavation	-	99	
634	62	F	pneumo- phtisiologie	adénopathie médiastinales et abdominales profondes avec lésions interstitielles bilatérales +connectivite	-	104	
692	62	F	pneumo- phtisiologie	pneumopathie interstitielle diffuse+microtomie+sclérodémie	-	632	
700	55	F	pneumo- phtisiologie	asthénie+péricardite+pneumopathie interstitielle diffuse+connectivite et vascularite	-	92	
709	44	F	neurologie	Vascularite	-	107	28
1049	1	F	mussy	fièvre+hépatomégalie+ictère	+		18
1122	42	F	médecine interne	fièvre+asthénie+altération de l'état général+arthralgies+arthrites +péricardite	-		25
1675	49	F	pneumo- phtisiologie	pneumopathie interstitielle bilatérale+syndrome de Raynaud+arthralgie	-		
1724	66	F	rhumatologie	arthrite+hépatopathie	+	157	45
1819	35	F	médecine interne	hépatopathie chronique au stade d'hypertendu fatal d'origine indéterminée+hépatite auto-immune	+		57
2215	56	F	médecine interne	asthénie+altération de l'état général+hépatopathie chronique+hépatopathie dysimmunitaire	+		109
2269	39	F	médecine interne	arthralgies+photosensibilité+érythème malaire+nodule thyroïdien+cytolyse+choléstase+maladie auto-immune+LED	-		53
2799	46	F	pneumo- phtisiologie	EPL de petite abondance stable	-		
2977	45	F	gastrologie		-		
2991	66	F	médecine interne	asthénie+arthralgie +faiblesse musculaire+ictère +prurit+hépatite auto-immune	+	27	23
3208	39	F	cardiologie	hépatomégalie+thrombose+asthénie	-		+
3502	26 mois	F	pédiatre	diabète type 1	-		
3633	66	F	hématologie	troubles hépatiques +syndrome de cytolyse +hypochondre		139	58
3687	53	F	néphrologie	arthralgies+érythème malaire+syndrome sec+anémie	-		
3748	54	F	rhumatologie	arthralgies+Polyarthrite rhumatoïde	-	106	
4085	73	F	hemophilie	asthénie+thrombocyte mie	-		
4135	34	F	médecine interne	fièvre+asthénie+altération de l'état général+phénomène de Raynaud+arthralgies+myalgie+alopecie+vascul arite+pericardite+anemie monocyttaire normochrome	-	161	
4244	45	F	rhumatologie	polyarthrite +maladie de Raynaud+vs accéléré +connectivite	-	95	47
4289	25	F	Médecine interne	altération de l'état général+arthralgies+fièvre+syndrome sec+troubles digestifs+anémie+diarrhée+érythème malaire	-		
4523	46	F	chirurgie générale	goitre	-	104	
4571	38	F	gastrologie	asthénie, arthralgie, arthrite, prurit, cirrhose biliaire primitive	+	36	
4601	47	F	médecine interne	fièvre+arthralgies+myalgies+hepathomégalie+ic tère+diarhée+hepatite auto-immune+cirrhose biliaire primitive	+	142	

4817	50	F	neurologie	arthralgies+myalgie+faiblesse musculaire+photosensibilité+lived o+atteinte neurologique+thrombose+thrombose veineuse superficielle	-	81	
4925	73	F	rhumatologie	polyarthrite chronique +syndrome sec, oculo-buccale, gonflement parotidien, gougerront II aire	-	164	
5260	32	F	néphrologie	douleur osseuses diffuse surtout au niveau du bassin myélome multiple	-	142	
5285	61	F	rhumatologie	polyarthrite bilatéral et systémique non déformante	-	200	
5286	35	F	médecine interne	hépatite auto-immune+polymyofilie	+		
5899	56	F	rhumatologie	arthralgie ; arthrite ; phénomène de Raynaud syndrome sec; connectivite	-	72	
5939	12	F	rhumatologie	polyarthrite chronique; déficit musculaire proximal; lésion cutanée de dermatomyosite alopecie; altération de l'état générale; bilan hépatique perturbé; dermatomyosite éventuel chevauchement avec un lupus	+		
5973	44	F	neurologie	arthralgie ; myalgies ; phénomène de Raynaud ; syndrome sec ; atteinte neurologique; vasculrite	-	166	
8521	2 ans	F	rhumatologie	RID	-		
8904	30	F	médecine interne	crohn	-	-	

Résultats des dosages immunologiques ELISA : Homme

numéro	Age	sexe	Service	Signes cliniques	foie+	ELISA	
						AMA	SMA
629	57	H	hemophilie	adénopathie cervical et axillaire+syndrome lymphoproliferatif	-		26
2016	68	H	médecine interne	hépatopathie chronique cholestatique	+		38
2228	40	H	pathologie bucco-dentaire	diarrhée	-	43	
5128	13	H	pédiatrie	ictère à bilirubine mixte évoluant depuis 10 ans +syndrome de cytolyse: hépatite A, B, C =-, hépatite auto-immune	+		21
8551	74	H	hématologie	aplasie médullaire+syndrome anémique	-		
8704	23	H	hépatogastro-entérologie	ictère+hépatite aiguë ictérique	+		+
3	30	H	médecine interne	asthénie+hépatomégalie +ictère +prurit +thromboses+hépatite auto-immune	+	17	
956	56	H	pneumophtisiologie	épanchement pleural liquidien +arthralgies+kystes hépatiques	+	20	10
1330	57	H	néphrologie	syndrome pneumorenal hémoptysie +glomérulonéphrite rapidement progressive+vascularite	-	141	
1339	32	H	médecine interne	hépatite+ictère cholestatique+thrombose porte +abcès hépatique multiples+pancréatite chronique+diabète mitochondriale	+		34
1758	30	H	médecine interne	altération de l'état général +arthralgies +arthrite+fièvre+myalgie+lupus érythémateux+polyarthrite+spondylarthropathies+vascularite	-		25
2226	6 ans	H			-	109	
2293	42	H	rhumatologie	asthénie+altération de l'état général+arthralgies+ictère+bulles endobuccales+pâleur cutané-muqueux+épistaxis+maladie de système (sarcoïdose) +syndrome hémorragique+hépatomégalie+splénomégalie+ADP centimétriques abdominales	+		41
2502	38	H	néphrologie		-	44	
2518	82	H	médecine interne	asthénie+altération de l'état général+péricardite+pleurésie+hépatopathie chronique+hépatite C	+	40	
3188	1	H	pédiatre	hépatomégalie+ictère+retard staturo-pondéral	+		31
3221	11	H	pédiatre	asthénie ; ictère, altération de l'état général, retard staturo-pondéral, HIV positive, anémie, leucopénie	-		37
4383	56	H	médecine interne	syndrome tumoral profond, splénomégalie+thrombopénie+atteinte hépatique	+		22
4395	55	H	médecine interne		-		21
4751	45	H	médecine interne	fièvre+asthénie+altération de l'état général+hépatomégalie+hépatopathie	+	5	
4836	74	H	néphrologie	IRA, pneumonie+atteinte digestive	-	66	
7007	53	H	neurologie	hépatopathie+troubles digestifs+atteinte neurologique+thrombose+	+		
7517	44	H	gastro-entérologie	syndrome de cytolyse fluctuant	+		-
9773	79	H	médecine interne	asthénie +hépatomégalie+ictère+hépatite auto-immune	+		+