



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université SAAD DAHLAB – BLIDA

Mémoire de projet de fin d'études en vue de l'obtention du Diplôme de

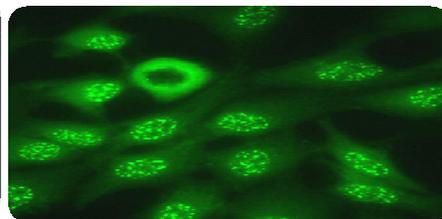
Master

Domaine : SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

Option : Biosignalisations Cellulaires et Moléculaires / Immunologie

Thème :

Diagnostic immunologique de lupus érythémateux systémique



Présenté par :

BENSAAD Lamia

SAYAH Fadila

Soutenu le 16/06/2015 devant le jury composé de :

Présidente : Dr BELMESKINE. H

MAB

USDB

Examinatrice: Mme BENCHABANE. S

MAB

USDB

Promotrice : Mlle LOUNICI. Y

MAI

CHU Mustapha

Co-promotrice: Mlle BIREM. Z

MAA

USDB

Promotion 2014/2015

Remerciements

Au terme de ce travail, il m'est particulièrement agréable d'exprimer notre reconnaissance et nos vifs remerciements à toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin à sa réalisation

Nos remerciements d'abord Allah qui nous a donné la santé et le courage pour réaliser cette mémoire.

Nous tenons à remercier Dr. BELMESKINE H Maître assistante à la faculté de biologie de Blida, Qui nous a fait l'honneur d'accepter la présidence du jury de ce travail, Hommage respectueux.

Nous remercions également : Mme BENCHABAN. S Maître assistante à la faculté de biologie de Blida, Pour avoir accepté d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions. Sincères remerciements.

A notre promotrice LOUNICI. Y, Assistante en immunologie au CHU Mustapha Bacha d'Alger, Pour le temps qu'elle a passé à la relecture de ce travail, sa patience et ses conseils avisés, et pour sa gentillesse

Sincères remerciements.

A Mme LOUZAI. Y, pour avoir accepté de diriger ce travail, pour votre disponibilité, votre attention et votre aide précieuse dans l'élaboration de cette étude.

A nos Co-promotrice, Mlle BIRAM. Z, Maître-assistant à l'USDB, pour sa disponibilité, sa gentillesse, sa patience, et ses précieux conseils.

A tout le personnel du service d'Immunologie : A Pr BENCHALIMA chef de service d'immunologie au niveau du C.H.U MUSTAPHA Bacha, Nous vous remercions de votre disponibilité, et de la formation que nous avons reçue auprès de vous. En fin, nous formulons nos remerciements à toutes les personnes qui nous aident à la réalisation de ce travail et qui sont si nombreuses pour en faire une liste nominative.

Dédicaces

*Je dédie le fruit de ma réussite aux êtres les plus chers
a mon cœur et a qui j'exprime tous mes sentiment d'amour
et de gratitude mes parents qui mon toujours aidée et
+9soutenu durant toutes mes année scolaire vous êtes un
cadeau de dieu. Longue vie à mes cotés.*

Je dédie également ce travail

À mes chères sœurs Nadjwa, Zahra et Nacéra.

A mes frères : Hakim, Azzedinne, Djamel et

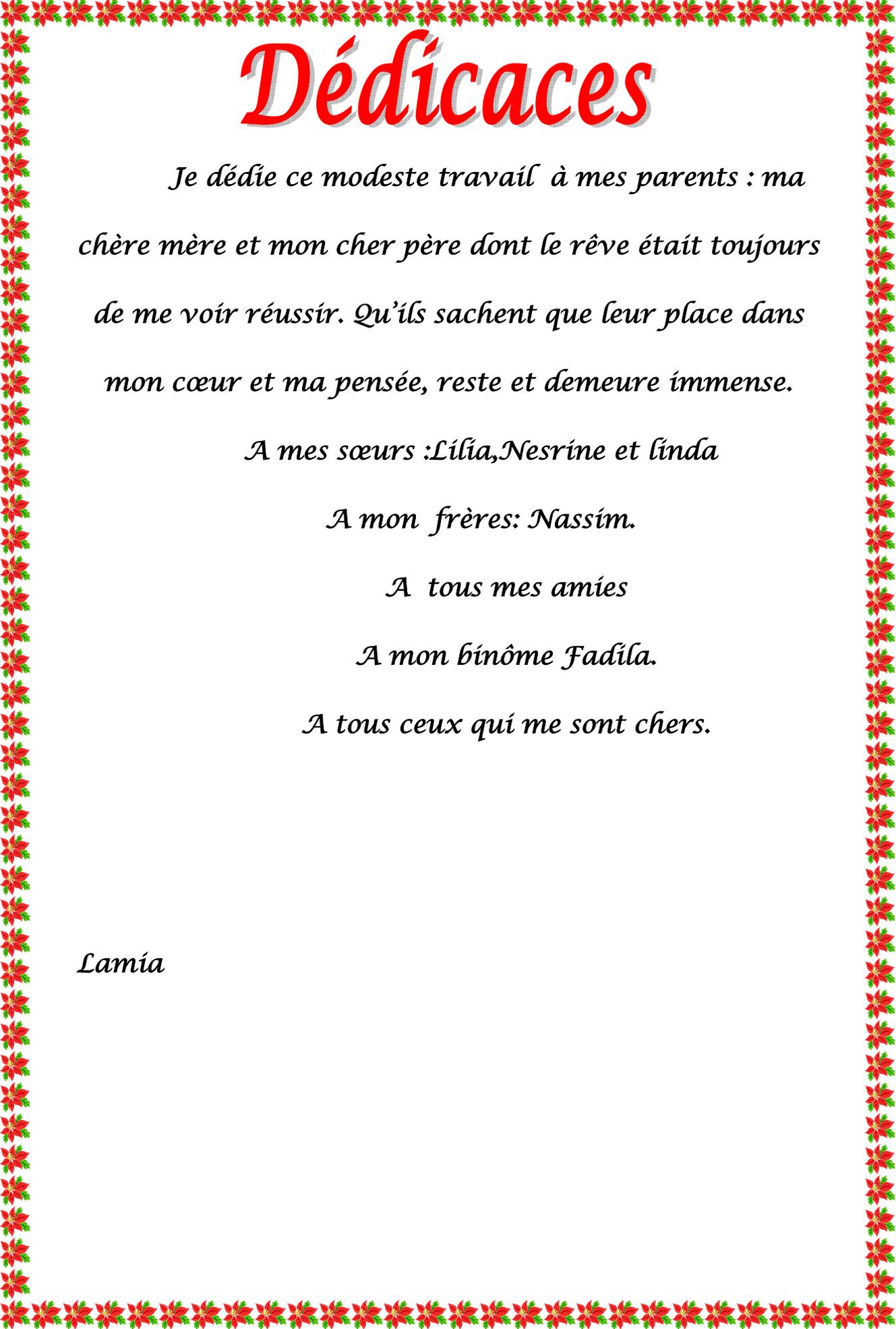
Mohammed.

*A tous ce qui ont participé de loin ou de près à
l'élaboration de ce travail en particulier mon cher binôme*

Lamia.

Aux étudiants d'immunologie de notre promotion.

Fadila



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à mes parents : ma chère mère et mon cher père dont le rêve était toujours de me voir réussir. Qu'ils sachent que leur place dans mon cœur et ma pensée, reste et demeure immense.

A mes sœurs :Lília,Nesrine et Linda

A mon frères: Nassim.

A tous mes amies

A mon binôme Fadila.

A tous ceux qui me sont chers.

Lamia

Résumé

Le lupus érythémateux systémique (LES) représente l'archétype des maladies auto-immunes systémiques. Cette pathologie se caractérise par une atteinte multiviscérale et, sur le plan biologique, par une réponse auto-immune dirigée contre des antigènes d'origine nucléaire.

Nous avons analysé les caractéristiques cliniques et le profil des auto-anticorps de 42 patients Algériens atteints le LES. Les anticorps antinucléaires (AAN) ont été recherchés par la technique d'immunofluorescence indirecte sur Lignée cellulaire épithéliale humaine: type 2, et les anti antigènes nucléaires extractibles (anti-ENA) par la technique d'ELISA et les anti-ADNn par technique d'immunofluorescence indirecte sur crithidia luciliae. L'âge moyen de nos malades est de 34,52 ans et le sex-ratio H/F est de 1/ 20. Les jeunes femmes âgées de 26 à 32 ans sont les plus touchées. Les manifestations cliniques initiales les plus fréquentes accompagnant le LES sont respectivement : l'arthrite (38,1 %), les atteintes rénales (35,71 %), les atteintes cutanées (23,81%), et des atteintes articulaires (21,43%). Les Facteur Anti-nucléaires sont révélés positifs dans 100 % des cas, les AC anti-ADNn chez 57,14% de malades, et concernant les ENA 6 : les anti-Sm et anti-SSB sont présents chez 21,43%, les anti-SSA et les ant-Jo-1 sont retrouvés respectivement chez 28,57 et 2,38 % patients lupiques. Les AC anti-ADNn permettent le diagnostic et le suivi des lupiques qui ont des atteintes rénales.

Mots-clés : Lupus érythémateux systémique, diagnostic immunologique ; atteintes rénales; anti-nucléaire, Anti-ADN; Anti-ENA; IFI ; ELISA.

Abstract

Systemic lupus erythematosus (SLE) is the archetype of systemic autoimmune diseases. This disease is characterized by multiple organ damage and, biologically, by an autoimmune response against nuclear antigens.

We analyzed the clinical characteristics and profile of auto-antibodies in 42 patients' systemic lupus erythematosus of Algerian. Antinuclear antibodies (ANA) were detected by the indirect immunofluorescence technique on human epithelial cell line: Type 2, anti extractable nuclear antigens (anti-ENA) by Elisa technique and anti-dsDNA by technique indirect immunofluorescence on *Crithidia luciliae*. The average age of our patients was 34.52 years and the sex ratio M / F is 1 / 20. Young women aged from 26 to 32 years are the main affected. Arthritis 38.1%, kidney damage 35.71%, skin disorders 23.81% and 21.43% of joint damage articulation were the most frequent initial clinical manifestations. The FAN was positive in 100% of the cases, AC anti-dsDNA in 57.14% and for ENA 6: anti-Sm and anti-SSB in 21.43%, anti- SSA and ant-Jo-1, respectively 28, 57% and 2.38% cases. Anti-dsDNA anti-body allow diagnosis and the following of SLE which has renal impairment.

Keyword: systematic erythematosus lupus, immunologic diagnostic, antinuclear factors, kidney damage, Anti-ADN; Anti-ENA, IFI, ELISA.

ملخص

الدُّبَّة الحمّامية الجهازية (LES) هي النموذج الأصلي من أمراض المناعة الذاتية النظامية. يتميز هذا المرض بتلف أجهزة الجسم المتعددة، وبيولوجياً من خلال رد فعل المناعة الذاتية ضدّ المستضدات النووية. قمنا بتحليل المظاهر السريرية والأجسام المضادة لـ 42 مريضاً جزائرياً مصاباً بداء الدُّبَّة الحمّامية الجهازية. أين تم الكشف عن الأجسام المضادة للنواة (ANA) بواسطة تقنية الوسم المناعي غير المباشرة على خلية الإنسان الظهارية: نوع 2، ومضادات المستضدات النووية القابل استخراجها (ENA) بتقنية ELISA أما مضادات الحمض النووي الأصلي DNAds بواسطة تقنية الوسم المناعي غير المباشر على الشعروية (*LuciliaeCrithidia*). كان متوسط عمر المرضى لدينا 34.52 سنة، ونسبة الجنس M / F هو 1 / 20. النساء اللواتي تتراوح أعمارهن بين 26-32 عاماً هنّ الأكثر تضرراً. المظاهر السريرية الأولية الأكثر شيوعاً المصاحبة لل LES هي على التوالي: التهاب المفاصل 38.1٪، الفشل الكلوي 35.71٪، واضطرابات الجلد 23.81٪ وتلف المفاصل 21.4٪. عامل المضادات النووية كانت ايجابية في 100٪ من الحالات، مضادات الحمض النووي الأصلي dsDNA في 57.14٪ أما مضادات anti-Sm و anti-SSB في 21.43٪، SSA و JO-1 على التوالي 57.28٪ و 38.2٪ من الحالات، مضادات الحمض النووي الأصلي DNA تسمح بتشخيص وتتبع الأشخاص الذين لديهم قصور كلوي مع LES.

كلمات المفتاحية : الدُّبَّة الحمّامية الجهازية، التشخيص المتاعي؛ عامل المضادات النووية؛ الفشل الكلوي مضادات الحمض النووي الأصلي ADN؛ مضادات ENA؛ ELISA؛ IFI.

Liste des figures

CHAPITRE I : synthèse bibliographique.

Figure 01 : Physiopathologie du lupus systémique.

Figure 02 : Algorithme proposé pour la recherche d'anticorps antinucléaires (ANA)

CHAPITRE II : Matériel et méthodes.

Figure 03 : Répartition des patients lupiques recrutés selon le service

Figure 04 : Principe d'immunofluorescence sur les cellules Hep-2

Figure 05 : Aspect des anticorps antinucléaires à l'immunofluorescence indirecte (IFI) sur cellules HEp-2

Figure 06 : Principe de test ELISA sur les cellules Hep-2

Figure 07 : Automate ELISA DS2 SYSTEM

Figure 08 : La lame crithidialuciliae

Figure 09 : Réaction positif sur crithidia lucilia

Figure 10 : Réaction négatif sur crithidia lucilia

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISSCUSION.

Figure 11 : Répartition des patients lupiques selon le sexe

Figure 12 : Répartition des cas selon les tranches d'âge

Figure 13 : Répartition des patients selon les manifestations cliniques

Figure 14 : Représentation graphique des différents aspects retrouvés chez les patients atteints de lupus systémique par IFI sur cellules Hep-2, pour les facteurs anti-nucléaires (FAN)

Figure 15 : Répartition des patients selon la présence des Ac Anti-ENA6 et leurs pourcentages

Figure 16 : Représentation graphique du dosage des auto-Ac anti-ADNn chez les patients atteints de lupus.

Figure 17 : Représentation graphique du dosage des Ac anti-ADN natif chez les patients atteints de lupus qui présentent des atteintes rénales

Figure 18 : Répartition des patients selon l'aspect de fluorescence et la nature des Ac détectés

Figure 19 : Répartition des patients lupique selon la présence des auto-anticorps anti-ADNn et anti-ENA

Liste des figures

Liste des tables

CHAPITRE I : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE.

Tableau I : Facteurs environnementaux et LES

Tableau II : Classification internationale des néphropathies lupiques

Tableau III : Critères de classification révisés du syndrome des antiphospholipides

Tableau IV: Critères de classification du lupus érythémateux systémique proposé par le Collège Américain de Rhumatologie (ACR), 1982, modifié en 1997

Tableau V : Critère de classification SLICC du LES

Tableau VI : Fréquence et spécificité des principaux anticorps antinucléaires.

.....

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES.

Tableau VII:Les différents types de fluorescence et l'Ag associée.

Tableau VIII :Fréquence et spécificité des principaux AC anti-nucléaires

.....

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION.

Tableau IX :Fréquences des manifestations cliniques chez les patients lupiques.

Tableau X : la répartition des patients selon les services

Tableau XI :la répartition des patients selon la tranche d'âge

Tableau XII : Répartition des cas selon l'aspect de fluorescence et le titre en AC Anti nucléaire (FAN)

Tableau XIII : Répartition des patients selon la présence des Ac Anti-ENA6 et leurs pourcentages

Tableau XIV: Répartition selon la positivité des Ac anti-ADN natifs

Tableau XV: Répartition des patients selon l'aspect de fluorescence et la nature des Ac détectés

SOMMAIRE

○ Introduction.....	1
○ Chapitre I : synthèse bibliographique	
Lupus érythémateux systémique	
1- Définition.....	2
2- Epidémiologie.....	2
3- Physiopathologie.....	2
a) Mécanismes immunologiques.....	2
b) Les bases génétiques du lupus systémique.....	4
c) Des facteurs environnementaux favorisant le développement du LES..	5
4- Clinique	
4.1-Les signes généraux	5
4.2-Manifestations rhumatologiques.....	5
4.3-Manifestations dermatologiques.....	6
4.4-Manifestations rénales.....	7
4.5-Manifestations vasculaires.....	7
4.6-Manifestations neuropsychiatriques.....	7
4.7-Manifestations cardio-pulmonaires.....	8
4.8-Manifestations diverses.....	8
5- Diagnostic	
-Démarche diagnostique immunologique	9
6- Aspects Biologiques	
6.1-Hémato-biologique.....	10
6.2-Syndrome inflammatoire.....	10
6.3-Bilan immunologique.....	11
○ Chapitre II : Matériel et méthodes	
I- Matériel.....	12
II- Méthodes.....	12
III- Rappel statistique	21
○ Chapitre III : Résultats et discussion.....	22
○ Conclusion.....	31
○ Référence.....	32
○ Annexe	

INTRODUCTION

Le lupus érythémateux disséminé c'est une maladie fréquente des maladies auto-immunes. Le lupus érythémateux systémique, ou LES, tire son nom d'un symptôme typique qui n'est pourtant présent que chez 60% des malades: une rougeur ou un érythème du visage en forme de masque de loup, couvrant les pommettes, les ailes du nez, le front et le pourtour des yeux.

Cette maladie auto-immune, où le système immunitaire dérégulé se retourne contre les propres cellules du sujet, est dite systémique car elle peut toucher n'importe quel organe. Son pronostic reste sévère, mais s'est beaucoup amélioré en quelques années. Quand la maladie s'exprime sur la peau, il est parfois difficile de différencier les atteintes du lupus systémique et celles d'une autre forme de lupus, purement cutané et bien plus bénin (**Lauchouarn, 2012**).

Le LES est une maladie qui touche toutes les populations du globe et toutes les races (**Mc Murray et May, 2003**), et affecte préférentiellement les femmes jeunes, mais elle peut débuter aussi chez les enfants et les personnes âgées, le sex-ratio est d'environ 9 femmes pour 1 homme (**Mathian et al., 2014**).

La connaissance de la physiopathologie reste encore incomplète mais il existe une production importante d'auto-anticorps formant, par liaison avec leur cible antigénique, des complexes immuns responsables de lésions tissulaires dans de multiples organes : la peau, le système nerveux, les articulations et surtout le rein. (**Mathian et Koutouzov, 2008 ; Mok, 2003**)

Le diagnostic repose sur la présence de signes cliniques et biologiques évocateurs dont les plus caractéristiques sont les anticorps antinucléaires.

L'évolution de la maladie est imprévisible. Certaines formes restent bénignes alors que d'autres se compliquent d'atteintes viscérales.

L'objectif de notre étude est la mise en évidence des auto-anticorps dirigés contre les constituants du noyau spécifiquement les anticorps anti-ADNn et les anticorps anti-ENA, afin d'asseoir un diagnostic immunologique de LES.

Notre étude a été faite selon le plan suivant: une partie bibliographique dans laquelle on a défini brièvement le LES, sa physiopathologie, ses manifestations cliniques ainsi que les troubles immunologiques qui ont un rôle fondamental dans le diagnostic. Une partie pratique contenant les matériels et les différentes techniques utilisées ainsi que les résultats et discussion.

1. Définition :

Le lupus érythémateux systémique (LES) est une maladie de cause auto-immune d'étiologie mal connue, caractérisée sur le plan biologique par la production de multiples auto-anticorps dont les plus caractéristiques sont dirigés contre certains composants du noyau comme l'ADN natif et les nucléosomes. Il est démontré que certains de ces auto-anticorps interviennent dans la pathogénie de la maladie, soit en se fixant directement sur leur cible et en activant le complément, soit par l'intermédiaire de complexes immuns circulants (**Mayer, 2000**).

2. Epidémiologie

La fréquence de la maladie lupique est loin d'être négligeable, sa prévalence est estimée entre 50 et 250 cas pour 100 000 habitants (**Sève et Kodjikian, 2013**). Il survient dans 85 % des cas chez la femme, généralement en période d'activité génitale (**Bonntblancet al., 2012**), avec une sex-ratio 9F/1H (**Bessiset al., 2007**).

3. Physiopathologie

Selon **Guillevin (2014)**, le lupus érythémateux systémique (LES) est un exemple type de maladies auto-immunes non spécifiques d'organe. Il s'agit d'une maladie complexe, multifactorielle, résultant de l'interaction de plusieurs facteurs (figure 1).

3.1-Mécanismes immunologiques :

L'origine du vaste processus d'auto-immunisation que constitue la maladie lupique a été attribuée à une perte de mécanismes physiologiques de contrôle de la production d'auto-anticorps (**Meyer et Kahn, 2000**).

3.1.1-Un dénominateur commun : les anticorps antinucléaires

Les auto-anticorps sont définis comme des anticorps dirigés contre des constituants du soi. Ils sont produits par des lymphocytes B auto-réactifs normalement éliminés dans la moelle osseuse au cours de la sélection négative. Dans le LES, les auto-anticorps sont dirigés contre des constituants cellulaires variés, principalement des constituants nucléaires (**Fournelet Muller, 2000**).

Les auto-anticorps jouent leur rôle pathogène par divers mécanismes mettant en jeu leur fixation directe sur des cibles cellulaires ou tissulaires, ou la formation de complexes immuns, occasionnant une réponse inflammatoire locale et des dommages tissulaires. Notamment dans le

cadre des glomérulonéphrites lupiques. Les complexes immuns se déposent et activent la voie classique du complément causant alors des lésions tissulaires.

Les anticorps antinucléaires sont les marqueurs sériques les plus caractéristiques. Leur cible antigénique est généralement localisée dans des complexes supramoléculaires comme le nucléosome, le splicéosome, la particule ribonucléoprotéique Ro et le ribosome, Ils sont le plus souvent détectés par immunofluorescence indirecte (IFI) (Fournel Muller, 2000).

3.1.2- La source principale des auto-antigènes du lupus systémique :

Il est de plus en plus vraisemblable que les cellules apoptotiques soient la source des auto-antigènes qui induisent la production d'auto-anticorps chez des sujets génétiquement prédisposés au lupus (Cook, 2001).

3.1.3- Le rôle central des lymphocytes B :

La perte de tolérance des lymphocytes B vis-à-vis des antigènes du soi est une caractéristique essentielle de la physiopathologie du LES (Lipskeret Sibili, 2013), maladie caractérisée par une hypergammaglobulinémie polyclonale (Richez, 2005).

La contribution des lymphocytes B à la physiopathologie de la maladie ne se limite pas qu'à la sécrétion des auto-anticorps, mais sont également des cellules présentatrices d'antigènes, capables d'activer les lymphocytes T. De plus ils sécrètent différentes cytokines et chimiokines, pro-inflammatoires comme l'IL-6, TNF α et anti-inflammatoires comme l'IL-4, l'IL-10, le (Mathian et al., 2014).

3.1.4- Les lymphocytes T contrôlent la réaction auto-immune :

Les lymphocytes T des patients lupiques répondent de façon anormale à la stimulation de leur récepteur de surface (TCR) et résistent à l'apoptose. Leur rôle dans la physiopathologie de la maladie pourrait s'expliquer par leur implication dans l'activation des lymphocytes B, par leur action cytotoxique et la sécrétion de cytokines.

3.1.4- Le rôle des cellules dendritiques :

Une activation inadaptée des cellules dendritiques semble être un élément important de la physiopathologie (Lipskeret Sibili, 2013). Les cellules dendritiques sont des cellules présentatrices d'antigènes professionnelles qui existent sous deux formes : les cellules dendritiques plasmacytoïdes et

myéloïdes. Dans un premier temps, le réseau des cellules dendritiques plasmacytoïdes est activé par la présence des complexes immuns et sécrètent alors de grandes quantités d'une cytokine importante dans la physiopathologie lupique, l'interféron alpha. Ce dernier est capable d'induire la différenciation des monocytes circulants en cellules dendritiques myéloïdes dont le rôle consiste à capter l'antigène nucléaire et à le présenter aux lymphocytes T CD4+ et aux lymphocytes B producteurs d'anticorps antinucléaires. Les auto-anticorps produits peuvent à nouveau se fixer sur les auto-antigènes nucléaires pour former des complexes immuns qui activent les cellules dendritiques plasmacytoïdes. Plusieurs stimuli des CDp ont été identifiés dans le LS : la coactivation du récepteur FcγIIA et de TLR7 ou TLR9 par les complexes immuns contenant de l'ADN ou de l'ARN ou l'activation de TLR9 par un virus, comme l'EBV par exemple. Il est intéressant de noter que, sous la dépendance du 17-βestradiol, les CDp sécrètent plus d'IFNα chez les femmes que chez les hommes (**Mathian et al., 2014**).

3.2- Les bases génétiques du lupus systémique :

De nombreuses études publiées ces dernières années (**Crow, 2008 ; Alexandre, 2012**) ont confirmé le rôle important de certains facteurs génétiques portant sur des gènes de régulation de l'immunité, en particulier les gènes des protéines du complément comme C1q, C2 et C4 et les gènes associés à l'haplotype comme A1-B8-DR3. Il existe vraisemblablement d'autres gènes intervenant dans la réaction immunitaire dont certains sont portés par le chromosome 1 (1q23) (**Meyer et Kahn, 2000**). L'implication de facteurs génétiques dans la prédisposition à l'auto-immunité est suggérée par des études familiales qui montrent que le taux de concordance entre jumeaux hétérozygotes est d'environ 5% mais augmente entre 25 et 50% chez les homozygotes (**Mathian, 2007**).

Il existe également une association à certains allèles du HLA de classe II (DR2, DR3) (**GUILLEVIN, 2014**)

Les méthodes de biologie moléculaire ont précisé la variété des allèles HLA associés à la maladie lupique et montré l'association préférentielle de certains allèles avec certaines manifestations cliniques ou biologiques (**kahn, 2000**)

3.3- Facteurs environnementaux :

Plusieurs facteurs externes favorisent le développement du LES, ceux-ci regroupent plusieurs agents infectieux bactériens ou viraux (**Richez, 2005**).

D'après **Gorochov etPapo (2000)**, l'exposition solaire est un facteur de risque majeur du déclenchement de la maladie et des poussées lupiques, le caractère photosensible des lésions fait partie des critères de l'ACR. Parmi les autres facteurs environnementaux (tableau I), l'exposition répétée à la silice, aux solvants et à certains agents potentiellement dangereux comme les pesticides, les organochlorés, constituant un facteur de risque de lupus (**Richez, 2005**).

la pris de certain médicaments peut induire de novo des manifestations clinique et biologique de LES. Plus de 120 médicaments différents ont été impliqué dans les lupus médicamenteux (Lipsker et Sibilias, 2013)

Tableau I : Facteurs environnementaux et LES, adapté de (**Mathian,2014**)

Facteurs environnementaux	Mécanisme du développement du LED
Rayons UV	Apoptose des kératinocytes
EBV (Epstein-barr virus)	Séquence épitopique comme avec les auto- antigènes SSA et SSB (mimétisme moléculaire)
Hydralazine,Procainamide	Inhibition de la méthylation de l'ADN surexpression de plusieurs gènes des LT
Silice, infections microbiennes	Activation polyclonale du système immunitaire.

3.4-facteursHormonaux :

Le rôle des hormones sexuelles a été étudié dans le déclenchement initial la survenue de poussées du LES. Plusieurs arguments plaident pour un rôle délétère des estrogènes (**Gorochov et Papo , 2000**). Les mécanismes par lesquels les estrogènes seraient impliqués dans la réponse auto-immune sont multiples. Par le biais de la stimulation du récepteur aux estrogènes, ils ont un rôle activateur sur le système immunitaire avec notamment une action sur les lymphocytes B et les lymphocytes T (**Mathian et al ; 2014**)

Chez la femme, la grossesse et la contraception orale contenant des estrogènes sont des circonstances aggravantes du LES mal controlés (**Gorochov et Papo , 2000**)

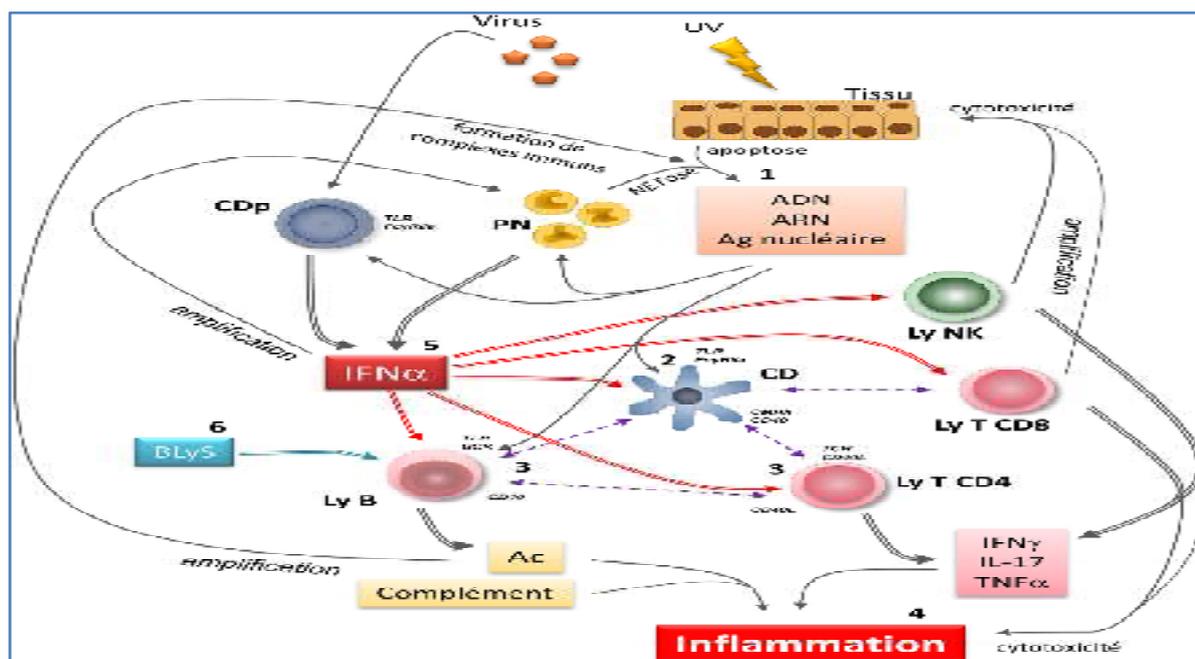


Figure1 : Physiopathologie du lupus systémique(Mathianet *al.* , 2014)

4.Clinique :

La maladie lupique peut avoir un début progressif avec une apparition successive des symptômes ou à l'inverse un début brutal au cours duquel sont d'emblée associées une altération fébrile de l'état général et des atteintes viscérales.

a) Les signes généraux :

On retrouve le plus souvent une asthénie due à une anémie ou à une inflammation, une anorexie avec un amaigrissement et de la fièvre en continu ou par poussée(Korganow et Martian, 2009).

b) Manifestations rhumatologiques :

Les manifestations ostéo-articulaires sont souvent inaugurales et sont observées au moins une fois au cours de l'évolution de la maladie dans 95% des cas(Weillet Batteux, 2003).

b.1.Manifestations articulaires :

Les manifestations articulaires sont présentes dans 80 à 90% des cas(College Français Des Enseignants En Rhumatologie, 2008).

b.2. Manifestations osseuses :

Rarement, le LES peut se compliquer d'ostéo-nécroses aseptiques se traduisant par une douleur mécanique d'apparition brutale (Weill et Batteux, 2003).

c) Manifestations dermatologiques :

Les manifestations cutané-muqueuses sont fréquentes et variées. Elles sont présentes dans 70- 80% des cas (Franceset *al.*, 2008).

c. 1. Lésions lupiques spécifiques :

Elles regroupent trois types de lupus cutané: le lupus érythémateux aigu qui est le plus fréquemment observé, le lupus érythémateux subaigu et le lupus discoïde ou chronique. Dans les trois cas, les lésions sont déclenchées ou aggravées par l'exposition solaire.

c. 2. Lésions non spécifiques :

Les lésions non spécifiques sont souvent la conséquence d'une atteinte vasculaire ou thrombotique (Collèges Des Enseignants En Dermatologie De France, 2008), pouvant se caractériser par:

- un phénomène de Raynaud dans 15 à 45% des cas qui peut aller jusqu'à une nécrose digitale devant faire suspecter une thrombose
- des lésions évoquant un syndrome anti-phospholipide (SAPL) : livedo diffus, associé à la présence d'anticorps anti phospholipides, atteinte cardiaque, manifestations ischémiques cérébrales ou ulcère veineux de jambe
- des lésions de vascularite se manifestant par un purpura ou une vascularite urticarienne
- des hémorragies sous-unguéales, un érythème plantaire, des télangiectasies périunguéales.

d-Manifestations rénales :

L'atteinte rénale est l'une des plus fréquentes complications du LES (30 à 50% des patients). Elle survient le plus souvent dans les cinq premières années d'évolution de la maladie et a une importance pronostique majeure (Fakhouriet Lesavre, 2007).

Une ponction-biopsie rénale, réalisée en cas de signes d'insuffisance rénale, permet de séparer les lésions glomérulaires en six grandes classes établies par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS). Ces classes sont regroupées dans le tableau II en annexe 1.

e-Manifestations vasculaires :

Les principales atteintes vasculaires pouvant survenir au cours d'un LES sont :

- une hypertension artérielle
- un phénomène de Raynaud
- un SAPL qui se définit par l'association d'au moins un des critères cliniques et d'au moins un des critères biologiques réunis dans le tableau III en annexe 1.

f-Manifestations neuro-psychiatriques

Les atteintes neuro-psychiatriques sont regroupées sous le terme de « neurolupus » qui se caractérise par un grand polymorphisme clinique et complique 30 à 60% des LES, il s'agit d'une manifestation viscérale grave de la maladie lupique (**Amoura et Piette, 2000**).

f.1-Atteintes du système nerveux central

L'atteinte est dominée par des troubles psychiatriques pouvant être observés jusqu'à dans 63% des lupus en phase de poussée (**Behinet Pradat, 2002**).

f. 2- Neuropathies périphériques

Les atteintes périphériques sont beaucoup plus rares. Il peut s'agir de polyneuropathies sensitivomotrices chroniques, d'atteinte du système nerveux autonome ou de mononévrites multiples.

g-Manifestations cardio-pulmonaires :

g. 1-Atteintes cardiaques

Les trois tuniques peuvent être touchées, mais la péricardite est l'atteinte la plus fréquente touchant 20 à 40% des patients (**Amoura et Piette, 2000**).

g. 2-Atteintes respiratoires

Au cours de l'évolution de la maladie, plus de 50% des patients auraient au moins une fois une manifestation pulmonaire (**Carmier et al., 2008**).

h-Manifestations diverses :

Le LES peut compliquer d'autres atteintes organiques:

- Adénopathies sont retrouvées chez 19-67% des maladies à un moment donné de l'évolution, leur présence serait un bon indice d'évolutivité de la maladie
- La splénomégalie modérée est possible mais assez rare (10 à 20% des cas)
- Les manifestations gastro-intestinales sont fréquentes
- Une atteinte hépatique qui se manifeste par une cytolysse modérée qui s'observe dans près de 30% des lupus évolutifs(**Meyeret Kahn, 2000**).

5-Le diagnostic du LES :

L'extraordinaire diversité des manifestations cliniques du lupus rend souvent son diagnostic difficile. Aucun paramètre clinique ou biologique isolé ne permet le diagnostic. Celui-ci nécessite l'association de plusieurs syndromes cliniques et/ou biologiques. La société américaine de rhumatologie (ACR) a proposé une classification de onze critères basés sur des symptômes cliniques (tableau IV: Voir annexe 1)(**MEYER, 2004**).

Les critères SLICC (systemicerythematosus lupusinternational collaboratingclinics) permettent la classification de la maladie lupique en présence là aussi de 4 critères dont un clinique et un immunologique parmi une liste de manifestations (tableau V) ou, fait nouveau, en présence d'une néphrite lupique avec une confirmation histologique, associée à des auto-anticorps caractéristiques(**Petriet al., 2012**).

Ces différents critères comprenant ACR et SLICC (Tableau V) sont complémentaires et devraient dans les prochaines années être utilisés ensemble pour les inclusions dans les essais cliniques sur le lupus.

Il ne faut pas perdre de vue que toutes ces listes de critères ont un défaut essentiel : il s'agit de critères de classification et non pas de critères diagnostiques. Leur utilisation comme outil diagnostique leur fait perdre leur sensibilité essentiellement au moment du diagnostic et de la présentation initiale. Il faut en effet parfois attendre de longues années pour voir apparaître le dernier critère permettant de classer "correctement" le patient(**Bertsias et al., 2013**).

Tableau V: Critère de classification SLICC du LES (Petri et al., 2012)

Critères cliniques	Critères immunologiques
1. Lupus cutané aiguë	1 . ANA
2. Lupus cutané chronique	2 . Anti-ADNn
3. Ulcères buccales ou nasales	3 . Anti-Sm
4. Alopécie non cicatricielle	4 . Anti-phospholipide
5. Arthrite	5 . Faible taux de complément
6. Séreuse	6 . Test de Coombs direct(Ne comptez pas sur la présence d'anémie hémolytique)
7. Rénal	
8. Néologique	
9. Anémie hémolytique	
10. Leucopénie	
11. Thrombocytopénie	

• Démarche diagnostique immunologique

Les principaux tests sanguins aidant au diagnostic du LES consistent en la mesure d'anticorps dirigés contre les composants du noyau(le facteur antinucléaire : FAN, figure 2)

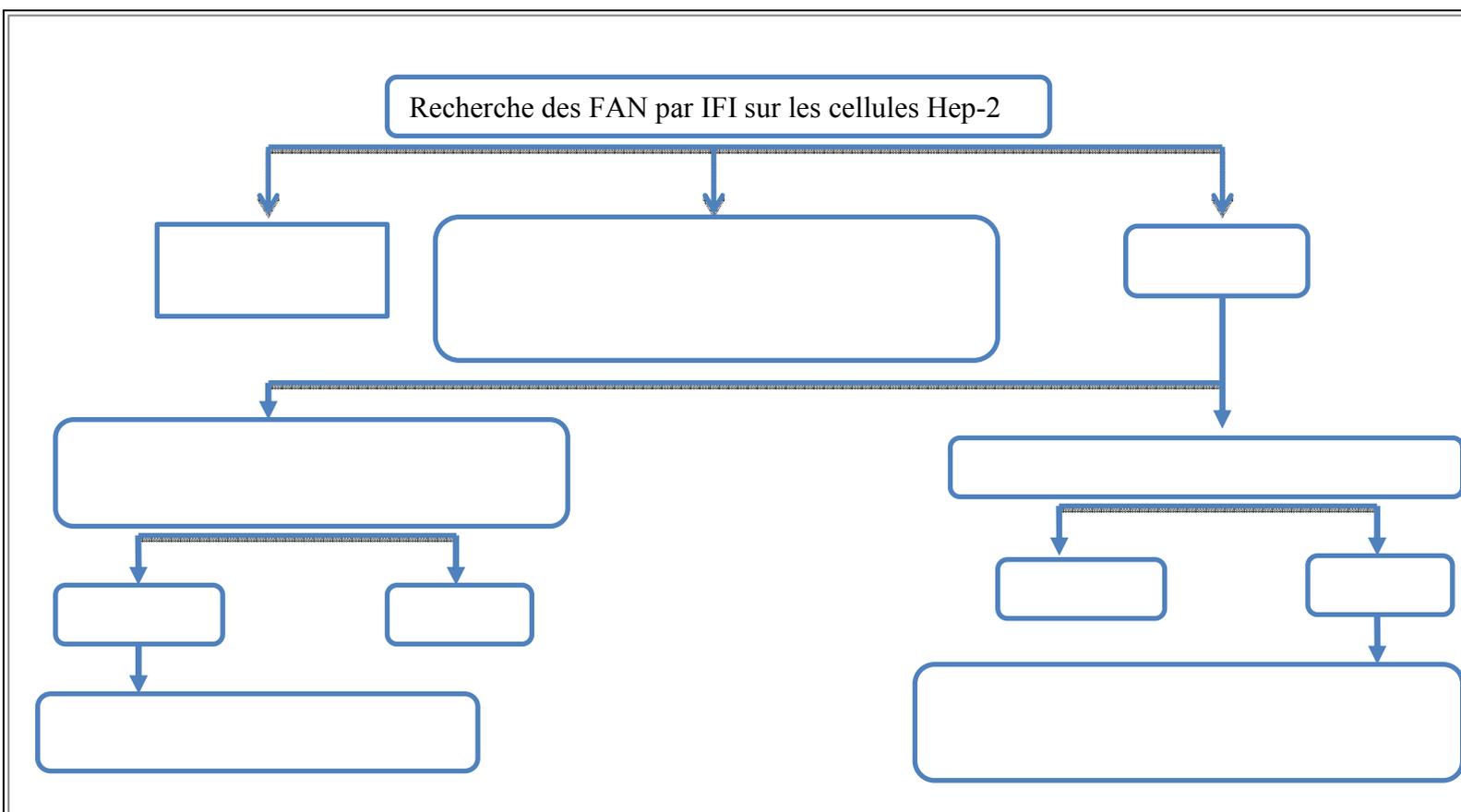


Figure 2: Algorithme proposé pour la recherche d'anticorps antinucléaires (ANA) (Petitpierre et al., 2009).

6-Aspects biologiques :**6.1. Manifestations hémato-biologiques :**

Trois lignées sont touchées, une anémie, une leucopénie et une thrombopénie. Ces différentes atteintes peuvent rester isolées ou précéder l'apparition de manifestations dermatologiques, articulaires ou viscérales (**Fusio et al., 1998**).

6.2. Syndrome inflammatoire :

Au moment des poussées, il est fréquent d'observer :

- Une augmentation presque constante de la vitesse de sédimentation (VS)
- Une protéine C réactive (CRP) qui reste normale ou peu élevée, une augmentation importante doit faire rechercher une source d'infection.
- Une hypergammaglobulinémie et hyperalpha-2globulinémie ;
- Une hypoalbuminémie.

6.3. Bilan immunologique : Anticorps anti-nucléaires (Tableau VI)

L'inventaire des anticorps d'un LES débute systématiquement par le dépistage et le titrage de l'ensemble des auto-anticorps nucléaires (AAN) sur des cellules Hep-2 (*human epithelial cell line type 2*). Cet examen est très sensible au LES, car il est positif dans plus de 95 % des cas. À l'inverse, l'absence d'AAN ne peut exclure un LES, car une apparition tardive peut survenir dans 1 à 5% des cas (**Youinou et Renaudineau, 2006**). Après leur diagnostic et leur titrage, différentes techniques d'identification peuvent être effectuées (immunodiffusion radiale, techniques immunoenzymatiques, immunotransferts...), qui précisent leur spécificité et permettent leur dosage (**Bingham et al., 2004; Humbel, 2003; Magdelaine et al., 2006**).

Tableau VI : Fréquence et spécificité des principaux anticorps antinucléaires (Meyer, 2005; Hachulla et Hatron, 2006).

Type	Fréquence	Spécificité
Antinucléaires totaux	98%	Non
Anti-ADNn	70-95%	++
Anti-histones	30-80%	Non
Anti-nucléosomes	74-85%	++
Anti-Sm	10-30%	+++
Anti-RNP	40%	Non
Anti-Ro/SSa	30-50%	Non
Anti-La/SSb	18-28%	Non

1-Matériel

Cette étude a été effectuée durant la période allant du mois d'octobre 2014 à avril 2015, au niveau de CHU Mustapha bacha- service d'immunologie, elle a concerné 42 sérums provenant de patients lupiques.

Ces malades sont recrutés au niveau des différents services (figure 3).

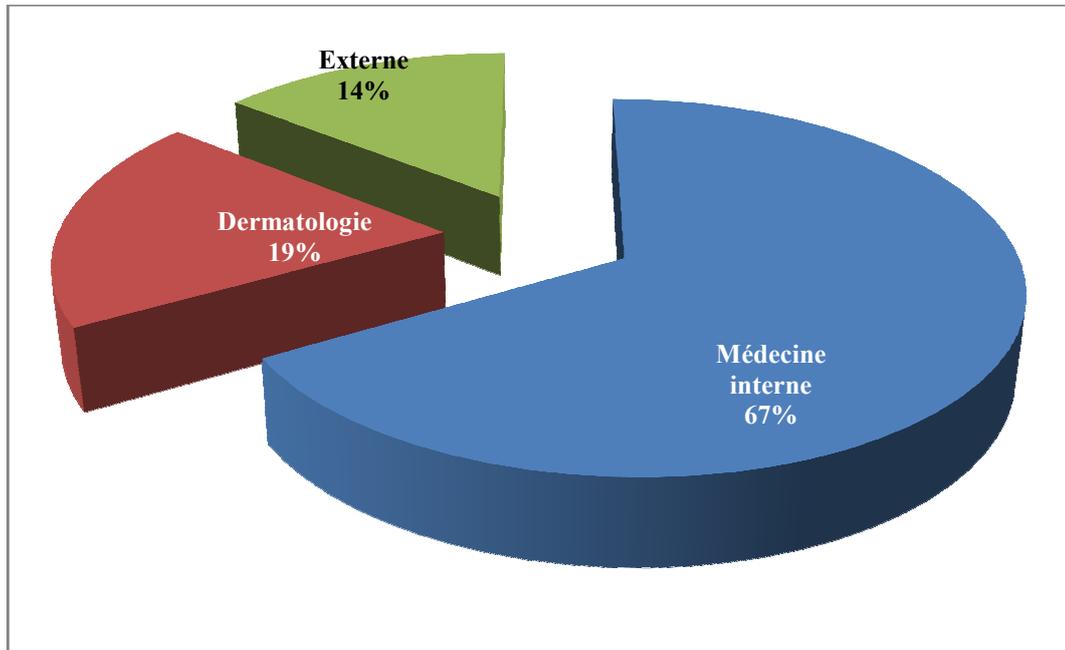


Figure 3: Répartition des patients lupiques recrutés selon le service.

1.1-Matériel biologique :

a) Sérums de patients lupique :

Le prélèvement sanguin s'effectue sur la veine du bas au pli du coude, le sang se récupère dans des tubes secs, ensuite est centrifugé à 4000 tours / minutes pendant 5 minutes, les sérums obtenus sont conservés à température -40°C.

b) Les cellules Hep2 (humain épithélioma type 2 cells) :

ce sont dérivées d'une lignée tumorale de cellules épithéliales de la trachée humaines, qui possèdent de gros noyaux et de gros nucléoles permettant une bonne visualisation des structures nucléaires reconnues par les anticorps du patient ; de plus, ces cellules étant tumorales, elles offrent l'avantage de présenter de multiples mitoses, utiles à l'interprétation et à l'identification d'anticorps particuliers et révélée par une technique d'immunofluorescence indirecte. Elle permet la détection et la détermination semi-quantitative des anticorps anti-nucléaires (ANA) dans le sérum humain.

c) *Critidia luciliae* :

Les *Critidia luciliae* sont des protozoaires flagellés de la mouche, non pathogènes pour l'homme, appartenant aux trypanosomides. Ces parasites se cultivent aisément in vitro dans des milieux contenant du sang et ils possèdent l'équivalent d'une mitochondrie, un kinétoplaste riche en ADN bicaténaire ou vont se fixer les anticorps anti-ADN natif. Les anticorps anti-ADN natif donnent une fluorescence intense de l'ADN circulaire de la mitochondrie (kinétoplaste).

1.2-Matériel non biologique et réactifs : (voir annexe 2)

2-Méthodes :

Le diagnostic peut être effectué par le biais d'analyse de sang lorsqu'on suspecte la maladie lupique, des tests sanguins sont utilisés tant pour la confirmation de la maladie. Le test standard de diagnostic est la recherche des anticorps antinucléaire (ANA) on les appelle également facteur antinucléaire (FAN).

Malheureusement, les FAN ne sont pas spécifiques du lupus. D'autres connectivites comme le syndrome de Sjögren donnent couramment un FAN positif. On peut également en retrouver dans la polyarthrite rhumatoïde et même chez des gens en bonne santé, le plus souvent alors à des titres faibles. Un FAN positif ne suffit donc absolument pas à poser un diagnostic de lupus. C'est la raison pour laquelle la découverte d'un FAN amènera à des dosages d'anticorps plus spécifiques, tels que les anticorps anti-ADN ou anti-ENA. Donc l'utilisation des techniques d'identification doit permettre de déterminer la nature de ces auto-anticorps.

a) Recherche des FAN par immunofluorescence indirect (kit NOVA Lite[®] Hep-2) :

Au vu de sa grande sensibilité, l'IFI est utilisée comme test de dépistage, en utilisant des cellules HEP-2 (*human epithelial cell line type 2*) sur lesquelles on pourra distinguer de nombreux aspects de fluorescence en rapport avec le type d'anticorps détecté.

▪ Principe du test :

Dans la technique par immunofluorescence indirect, le sérum du patient est déposé sur le substrat (Cellules Hep-2 le plus souvent) et incubé en chambre humide pendant 30 minutes, pendant ce temps, les anticorps présents dans le sérum vont se fixer sur leurs cibles antigéniques, et leur présence sera révélée par addition d'un anticorps anti - Immunoglobulines humaines marqué à la fluorescéine. Lorsqu'ils sont observés en microscope fluorescent, ces derniers ayant une réaction positive aux auto-anticorps afficheront une fluorescence vert pomme qui correspond aux zones de la cellule ou des noyaux où l'auto anticorps s'est lié, la lecture permettra de déterminer les 2 paramètres essentiels de cette technique : l'aspect de la fluorescence, et le titre des anticorps (figure 4)

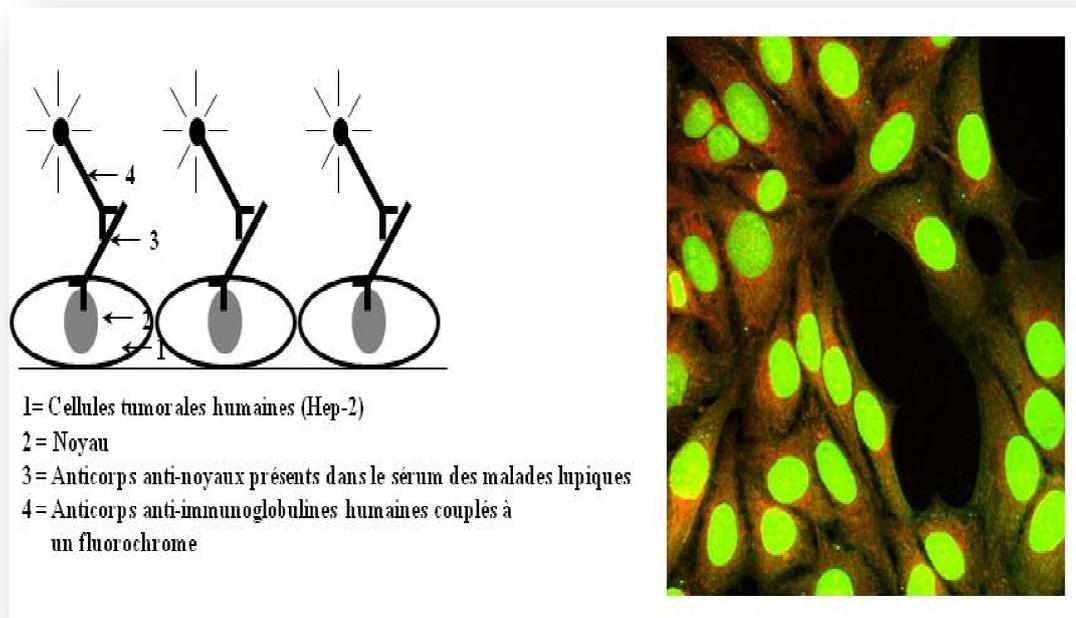


Figure 4 : Principe d'immunofluorescence sur les cellules Hep-2

▪ **Mode opératoire :**

Préparation du test :

- 1- Amener tous les réactifs et échantillons à la température ambiante et bien les mélanger avant de les utiliser.
- 2- Diluer le concentré PBS II 1 :40. Le tampon PBS II est utilisé pour diluer les échantillons des patients et comme tampon de lavage. Le tampon dilué peut être conservé jusqu'à 4 semaines à une température comprise entre 2°C et 4 °C.
- 3- Diluer les échantillons des patients :
 - a- Dépistage initial : diluer les échantillons des patients 1:40 avec la solution tampon PBS II diluée (c-à-d ajouter 50µl de sérum à 1,95 ml de solution tampon PBS II).
 - b- Titrage : diluer en série en double à partir de la dilution de dépistage initiale pour tous les échantillons positifs en utilisant la solution tampon PBS II (c-à-d 1 :80, 1 :160,...1 :2560).

Exécution du test :

- 1- Préparation de la lame substrat : laisser la lame atteindre la température ambiante avant de la retirer de sa pochette. Etiqueter la lame à l'aide d'un crayon et la placer dans une chambre humide adéquate. Ajouter une goutte (20 à 25 µl) du contrôle positif non dilué et du contrôle négatif respectivement sur les puits 1 et 2. Ajouter une goutte (20 à 25 µl) de l'échantillon du patient sur les puits restants.
- 2- Incubation de la lame substrat : incuber la lame pendant 30 ± 5 minutes dans une chambre humide (un essuie-tout humide placé à plat au fond d'un récipient de plastique ou de verre fermé permet

de maintenir les conditions d'humidité appropriées). Ne pas laisser le substrat se dessécher pendant la procédure d'analyse.

- 3- Lavage de la lame substrat : après l'incubation, utiliser une pissette de plastique ou une pipette pour le serum en rinçant délicatement avec la solution tampon PBS II diluée. Orienter la lame et le flot de solution tampon PBS II de façon à minimiser le débordement des échenillons entre les puits. Ne pas diriger le flot directement dans les puits sous peine d'abimer le substrat. Si désiré, placer les lames dans une Coplin de tampon dilué de PBS II pendant jusqu'à 5 minutes.
- 4- Addition des conjugué fluorescent : éliminer l'excès de la solution tampon PBS II en secouant la lame. Replacer la lame dans la chambre humide et recouvrir immédiatement chaque puits d'une goutte de conjugué fluorescent. Incuber la lame pendant 30 ± 5 minutes.
- 5- Lavage de la lame substrat : répéter l'étape 3 fois.
- 6- Montage de la lame : les procédures pour le montage d'une lame à l'aide de lamelles couvre-objet varient d'un laboratoire à un autre ; toutefois, la procédure suivante est recommandée :
 - a- Placer une lamelle couvre-objet sur un essuie-tout
 - b- Appliquer le milieu de montage en une ligne contenue sur le bord inférieur de la lame contre le couvre-objet
 - c- Eliminer l'excès de la solution tampon PBS II et placer le bord inférieur de la lame contre le couvre-objet de façon à ce que le milieu de montage coule vers le bord supérieur de la lame sans former de bulles d'aire

▪ Interprétation des résultats :

En cas de résultat positif, le titre des ANA (1/80, 1/160...) correspond à la dilution du sérum à laquelle la fluorescence disparaît. L'interprétation des différents aspects de la fluorescence est parfois délicate et peut varier d'un observateur à l'autre (figure 5).

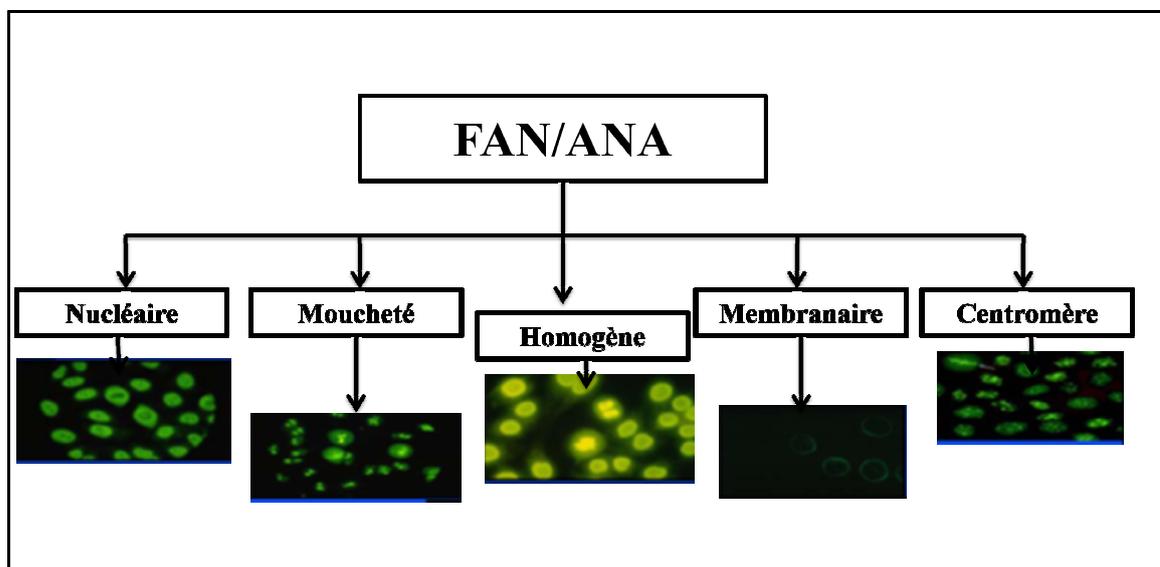


Figure 5: Aspect des anticorps antinucléaires à l'immunofluorescence indirecte (IFI) sur cellules HEP-2

Les différents types de fluorescence correspondent généralement à différentes spécificités cibles des anticorps du patient pour des composants cellulaires, qui sont eux-mêmes associés à différentes connectivités (tableau VII et VIII).

Tableau.VII : *Les différents types de fluorescence et l'Ag associée.*

Aspect	Antigène	Maladies associées
Homogène	ADN db	LED, Lupus induit
Moucheté <ul style="list-style-type: none"> • Grossier • Moyen • Fin • Discret 	RNP, Sm	MCTD, LES
	SSA, SSB	Sjogren, LES
	Scl-70	Sclérodermies
	Centromère	SREST
Nucléaire	ARN polymérase I	Sclérodermies

Tableau VIII: *fréquence et spécificité des principaux AC anti-nucléaires dans le LES.*

Type	Fréquence	Spécificité
Antinucléaires totaux	98%	Non
Anti-ADNn	70-95%	++
Anti-histones	30-80%	Non
Anti-nucléosomes	74-85%	++
Anti-Sm	10-30%	+++
Anti-RNP	40%	Non
Anti-Ro/SSa	30-50%	Non
Anti-La/SSb	18-28%	Non

b) Recherche des anticorps anti-antigènes solubles et anti-ADN natif par ELISA (kit QUANTA LITE) :

Ces anticorps ont été dosés par la technique immuno-enzymatique ELISA elle permet le dépistage quantitatif in vitro des auto-anticorps spécifiques IgG dirigés contre les Ag nucléaires extractibles (ENA) : SSA/Ro (60et 52 KD), SSB/La, Sm, Sm/RNP, Scl-70, et Jo-1 et contre l'ADN natif dans le sérum humain.

▪ **Principe du test :**

Chaque puits est coaté avec l'un des Ag suivants : SSA/Ro (60et 52 KD), SSB/La, Sm, Sm/RNP, Scl-70, Jo-1 et l'ADNn, Après incubation avec le sérum, on recouvre les puits avec des anticorps anti-Ig humaines couplés avec enzyme. Par la suite, on déduit enfin le titre des anticorps des échantillons à doser, puisque la densité optique de la coloration qui se développe est proportionnelle à la quantité d'anticorps présente dans le milieu (figure 6).

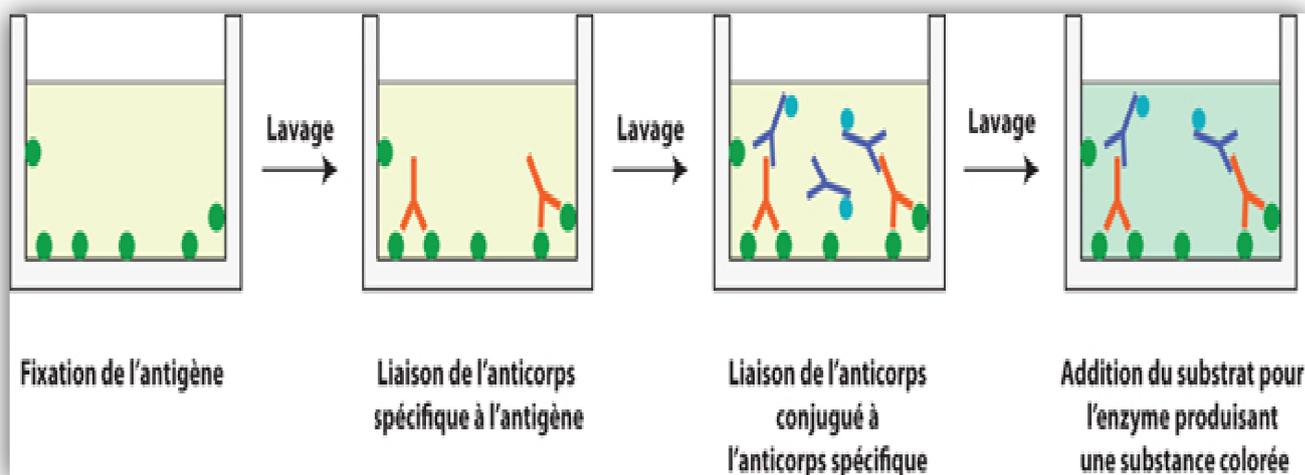


Figure 6: principe de test ELISA.

▪ **Mode opératoire :**

Préparation du test :

1- ramener le coffret à température ambiante

2- tous les réactifs du coffret doivent être agités avant utilisation.

3- diluer la totalité de la solution de lavage avec 975 ml de l'eau distillée (1/40). La solution tampon diluée reste stable une semaine à 2-8°C.

5- Une barrette est nécessaire pour le test d'un échantillon. Placer le nombre requis de barrettes sur la trame. A partir de la position A1, remplir les colonnes de gauche à droite. Lors de la manipulation du cadre. Le maintenir dans le sens de la longueur afin d'empêcher les barrettes de sortir de leur logement.

6- Diluer 10 µL de chaque échantillon avec 100 µL de diluant (1 :101) et mélanger bien.

Exécution du test : Maintenir la même séquence de dépôt durant tout le test

1-dépôt de l'échantillon :

Utiliser une barrette par échantillon, déposer 100µL des contrôles prêts à l'emploi : le control seuil en position A et le contrôle positif en position B sur toutes les barrettes. Ajouter 100µL de chaque échantillon diluée (1 :101) aux 6 puits restants des barrettes. Incuber pendant 30 minutes à T° ambiante.

2- lavage de la plaque :

La procédure de lavage est très importante et requiert une attention spéciale. Une plaque mal lavée donnera des résultats incorrects avec une précision faible et un bruit de fond important. Après incubation, laver 3 fois les puits avec 200 à 300µL de tampon de lavage en utilisant un laveur automatique, Après le lavage final, renverser la plaque et sécher les puits en tapant la plaque sur du papier absorbant.

3- Addition du conjugué :

Déposer 100µL de conjugué par puits. Essuyer les bords des puits pour éliminer les éclaboussures. Incuber à température ambiante pendant 30 minutes.

4- Lavage de la plaque.**5- Addition de substrat TMB :**

Déposer 100µL de TMB dans chaque puits. Essuyer les bords des puits pour éliminer les éclaboussures. Incuber 30 minutes à température ambiante dans l'obscurité.

6- Arrêt de la réaction :

Ajouter 100µl de solution d'arrêt dans chaque puits. Ceci induit un changement de couleur du bleu au jaune.

7- Mesure de la densité optique :

La densité optique (DO) de chaque puits doit être lue à 450nm à l'aide d'une lecture de plaque dans les 30 minutes suivantes l'arrêt de la réaction.

▪ Interprétation des résultats :

Les tests ELISA sont très sensibles et capables de détecter de faibles différences dans les différents échantillons, il est recommandé à chaque laboratoire de déterminer sa propre gamme basée sur les conditions locales.

Résultat ADNn	Interprétation
<30UI/mL	Résultat négative
30-75UI/mL	Résultat douteux
>75UI/mL	Résultat positive

Résultat ENA	interprétation
<8,0	Négatif
8-12	Douteux
>12,0	positif

- Remarque : ce test est automatisé au laboratoire par l'automate ELISA DS2 SYSTEM (figure 7)



Figure 7: Automate ELISA DS2 SYSTEM

c) Recherche des Anticorps anti-ADNn par immunofluorescence indirect sur *crithidia lucilia* :

L'immunofluorescence indirect sur *crithidia lucilia* est une technique d'immuno marquage a pour substrat des protozoaires flagellés *crithidia lucilia* fixé sur lame (figure 8). Cette technique permet la détection et la détermination semi-quantitative de l'ADN double brin dans le sérum humain. Cette méthode est très spécifique, mais beaucoup moins sensible que l'ELISA

- **Mode opératoire (Voir mode opératoire des Recherche des FAN par immunofluorescence indirect, page 12).**



Figure 8: la lame *crithidia luciliae*.

▪ Interprétation des résultats :

Réaction négative : un échantillon est considéré négatif si la coloration spécifique du kinétoplaste est moins forte que celle du contrôle négatif (figure 9)

Réaction positive : un échantillon est considéré positif si une coloration spécifique du kinétoplaste ou une coloration kinétoplaste et nucléaire est notée plus forte que celle du contrôle négatif. Tous les échantillons positifs devraient être titrés en utilisant des dilutions doubles en série jusqu'au point d'extrémité (figure 10).

La Détermination de l'intensité de la fluorescence se fait à l'aide des critères suivant :

4+ fluorescences éclatantes vertes pomme.

3+ fluorescences vives vertes pomme.

2+ fluorescences positives bien visibles.

1+ fluorescence spécifique la plus basse possible permettant la coloration du kinétoplaste qui doit être différenciée de fond visible.

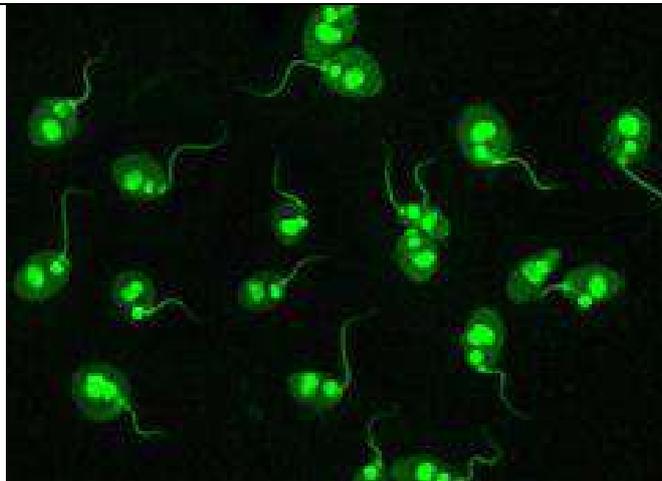


Figure 9: Réaction positif sur crithidia lucilia

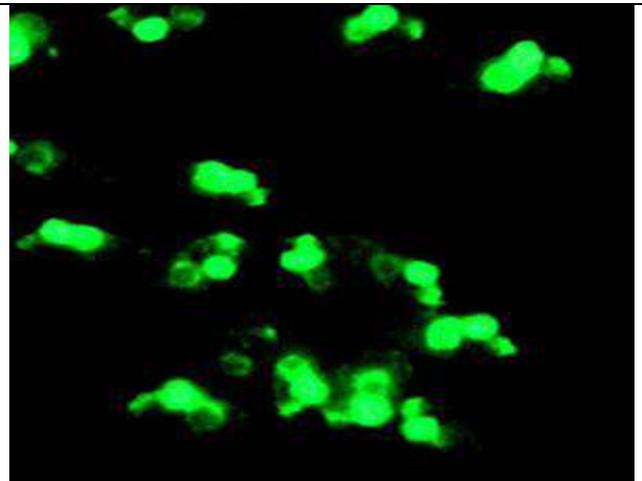


Figure 10: Réaction négatif sur crithidia lucilia

Nous avons réalisé notre étude sur des malades atteints du LES associé avec diverses manifestations pathologiques, ces patients sont recueillis au sein du service d'immunologie de l'hôpital CHU Mustapha-bacha. Au cours de cette investigation nous avons abordé différents aspects, comprenant l'aspect épidémiologique, clinique et immunologique. L'examen immunologique s'appuie sur l'identification et le dosage des auto-anticorps anti-nucléaire, anti DNAn, anti ENA, contenus dans le sérum de ces mêmes patients.

1. Epidémiologie :

1.1. Répartition des patients lupiques selon le sexe :

Notre étude est réalisée sur 42 patients lupiques, nous enregistrons que cette pathologie affecte les femmes plus que les hommes dont les pourcentages sont respectivement 95,23 % et 4,76 % avec un sexe ratio femme/homme de 20/1 (figure 11). Nos résultats rejoignent ceux de **Arnaud et al., (2013)**, qui ont rapporté une prédominance féminine du lupus.

D'après **Othmani et al (2002)**, cette prédominance peut s'expliquer à des hormones sexuelles comme les œstrogènes, à l'augmentation des taux plasmatiques de 17β -estradiol et à la diminution des concentrations plasmatiques de testostérone (**Perdriger, 2005**), à la grossesse au cours de laquelle les poussées lupiques sont aussi déclenchées, au péri et post-partum, à l'utilisation de la pilule estroprogestative (**Othmani et al., 2002**). Le mécanisme d'action des hormones sexuelles est inconnu, mais ces derniers ont des effets sur les réponses immunitaires (**Kahn, 2000**).

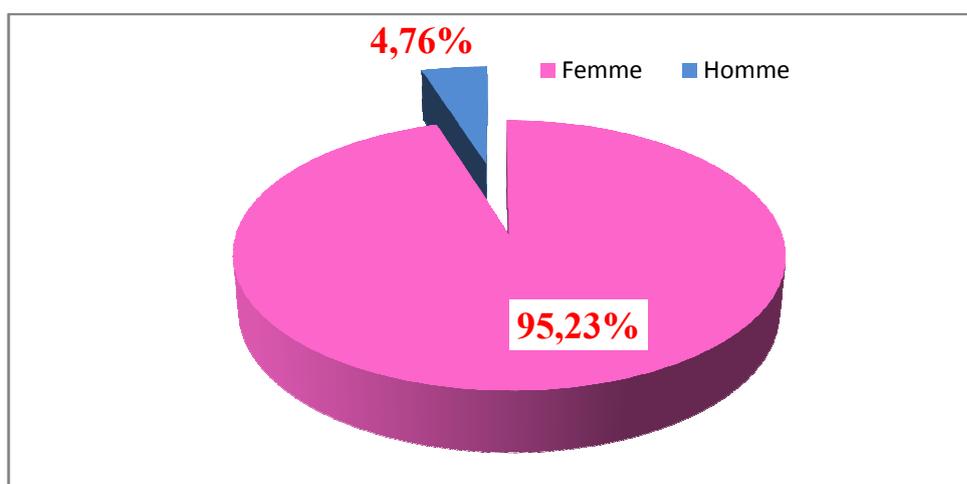


Figure 11: Répartition des patients lupiques selon le sexe.

3.2-Répartition des patients lupiques selon la tranche d'âge:

Nous avons réparti nos patients selon la classe de tranche d'âge (figure 12). La majorité de nos patients atteints de lupus représentent 26,19% et qui sont âgés entre 26 et 32 ans, dont l'âge moyen est de 34,52 ans \pm 8,8 ans. Ceux-ci rejoignent les travaux de **Mathian (2014)**, qui ont rapporté que le LES affecte préférentiellement les femmes jeunes en période d'activité ovarienne, mais cette pathologie peut s'observer dans l'enfance jusqu' à un âge avancé dans la vie.

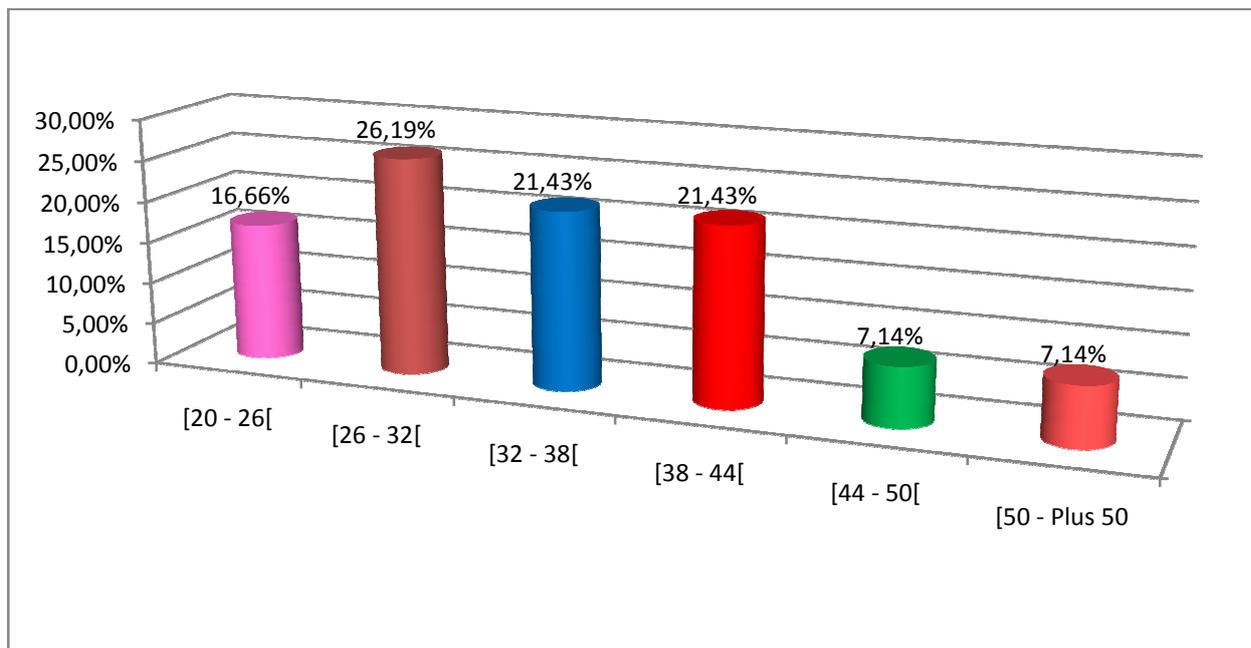


Figure 12 : Répartition des cas selon les tranches d'âge.

3.2. Clinique

De nombreuses atteintes s’observent au cours du lupus érythémateux systémique (tableau IX, figure 13). Nous affichons en premier l’arthrite représentant 38,1% des motifs de consultations, suivi des atteintes rénales qui sont de l’ordre de 33,33%, les atteintes cutanées sont marquées par 23,81%, des atteintes articulaires enregistrant 21,43% et des atteintes dues à la photosensibilité qui affichent 19,05%. Les autres atteintes sont de très faibles proportions comme l’atteinte cardiopulmonaire (9,52%), syndrome de raynaud (7,14%), l’ulcération buccale (4,76%) et l’atteinte hématologique (2,38%). L’atteinte rénale est plus marquée chez nos malades, ces mêmes observations ont été indiquées par **Karass (2012)**. Le faible taux des autres atteintes pourrait être dû au manque de services spécialisés, tous nos patients proviennent du service de la médecine interne.

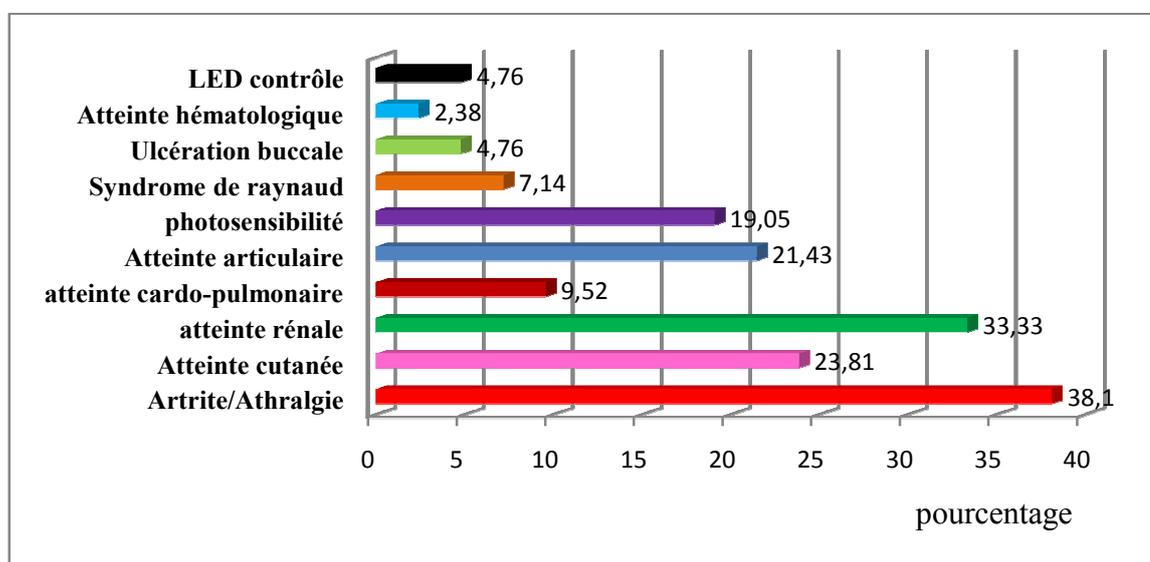


Figure 13 : Répartition graphique des patients selon les manifestations cliniques.

Tableau IV : Fréquence des manifestations cliniques chez les patients lupiques :

Clinique	%	effectif
Arthrite/Arthralgie	38,1	16
Atteinte cutanée	23,81	10
atteinte rénale	33,33	14
atteinte cardio-pulmonaire	9,52	4
Atteinte articulaire	21,43	9
photosensibilité	19,05	8
Syndrome de Raynaud	7,14	3
Ulcération buccale	4,76	2
Atteinte hématologique	2,38	1
LED contrôle	4,76	2

2-Profil immunologique

2.1-Expression des facteurs anti-nucléaires chez les patients lupiques

La recherche des FAN a été réalisée chez tous nos patients et s’est révélée positive chez ces derniers à un titre supérieur à **1/160**. Nous remarquons que l’aspect moucheté est le plus dominant comme le montre la figure 14.

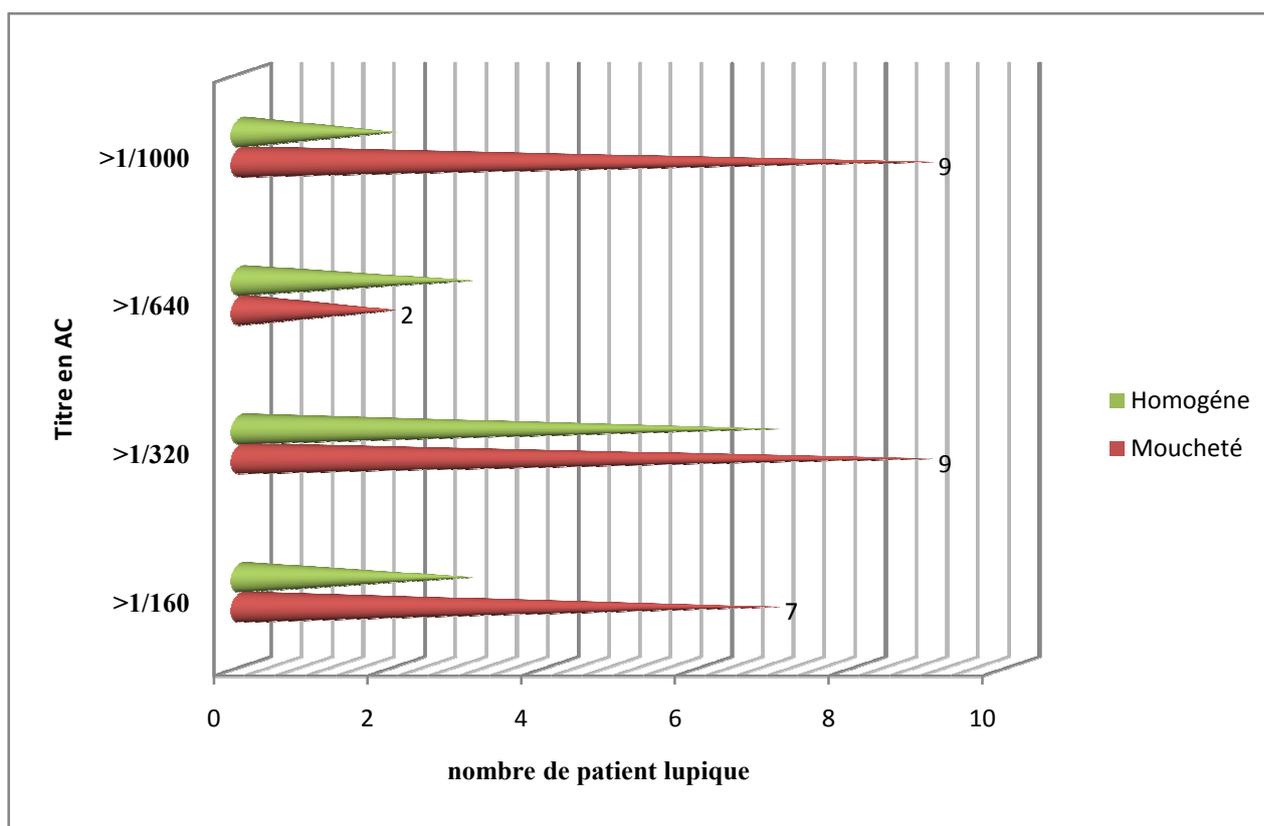


Figure 14 : Représentation graphique des différents aspects retrouvés chez les patients atteints de lupus systémique par IFI sur cellules Hep-2, pour les facteurs anti-nucléaires (FAN).

2.2-Expression des Ac Anti-ENA chez les patients lupiques :

Les Ac anti-antigènes nucléaires solubles sont présents chez 79% de nos malades (figure 15), ainsi les Ac Anti-SSA sont retrouvés chez 28,57% de nos patients. Ceux-ci rejoignent ceux de **Ghedira et al (2002)** ; **Louzir et al (2003)** qui ont démontré que la fréquence des anti-SSA et anti SSB varie entre 20 à 60 %. D'après **Petri et al (2002)**, ces auto-anticorps ont une forte valeur prédictive pour le diagnostic du LES.

Nous observons que les Ac Anti-SSB et les Anti-Sm sont présents chez 21,43% de nos malades. Ces mêmes résultats sont indiqués par **Tan et al (2006)**, montrant que les Ac anti-Sm sont observés chez 15 à 30% des patients, et qui sont très spécifiques du LES et ils sont inclus dans les critères sérologiques de la maladie comme les anticorps anti-dsDNA. Les anticorps anti-dsDNA et anticorps anti-Sm sont souvent associés à la présence d'une néphrite lupique (**Alba et al., 2003**). Quant aux Ac anti-RNP et aux Ac Anti-Jo-1, ils sont présents respectivement chez un nombre faible de malades 7,14 % et 2,38% (Figure 15). Par contre les travaux de **Cannone (2001)** ont enregistré 30 % de patients lupiques porteurs des anti-RNP, et selon **Louzir et al (2003)**, ces mêmes autoanticorps se retrouvent chez 66% de malades lupiques tunisiens. Cette différence pourrait s'expliquer à l'effectif faible de nos patients.

Haddouk et al (2005) ont étroitement corrélié cet auto-Ac avec syndrome de Raynaud.

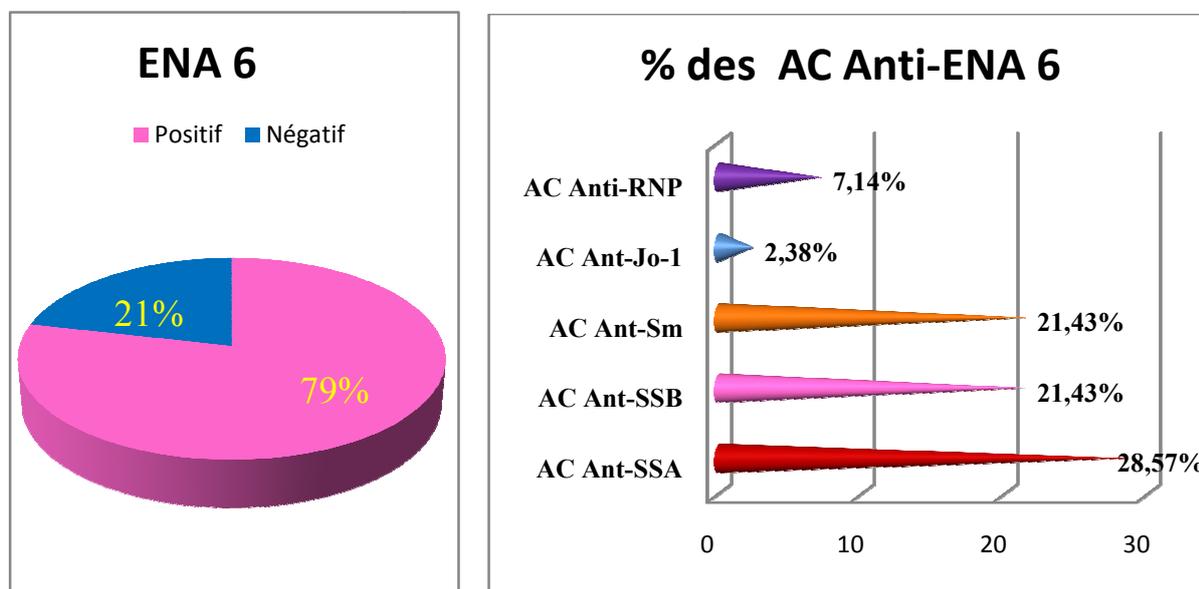


Figure 15 : Expression des Ac Anti-ENA chez les patients lupiques

2.3-Expression des Ac anti-ADN natifs chez les patients lupiques.

Les Ac anti ADN natif sont présentes chez 57,14 % patients, par contre les Ac anti-ADNn est représenté par 42,86% de malades (figure 16). Ceux-ci sont en accord avec ceux de **Kavanaugh et al (2002)**, qui ont montré que 70 % des patients lupiques présentent des Ac anti-ADNn.

Les ADNn négatifs sont marqués chez 42,86% de nos malades, ce résultat concorde parfaitement avec celui rapporté par **Renaudineau et al (2008)**, qui ont montré que la persistance d'un taux élevé d'Ac anti-ADNn, en dépit du traitement, majore la probabilité d'une rechute. Cette augmentation pourrait s'expliquer par la rémission des patients grâce à l'effet du traitement qui est principalement constitué d'immunosuppresseurs et corticoïdes.

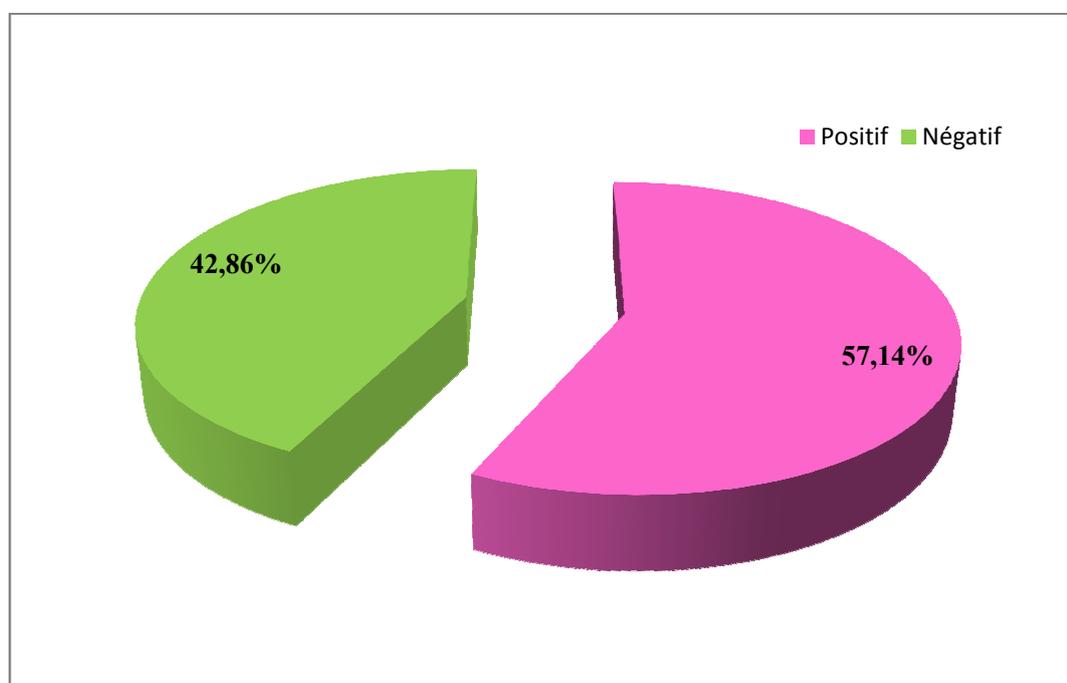


Figure 16 : Représentation graphique du dosage des auto-Ac anti-ADNn chez les patients atteints de lupus.

2.4-Expression des AC anti-ADNn chez les patients lupique qu'ayant des atteinte rénale :

Au cours de notre étude nous avons affiché 21,43% patients présentant des atteintes rénales, dont 69,23% révèlent la présence des Ac Anti-ADNn (figure 17). Nos résultats corroborent ceux **Kallenberg et al (2006)**, qui ont rapporté que la recherche des Ac anti-ADNnatif par le test d'immunofluorescence sur *Crithidia luciliae* qui est un examen moins sensible, qui est de l'ordre de 50 à 80%, l'étude des FAN est beaucoup plus spécifique du LES, constituant aujourd'hui l'élément clé du diagnostic biologique. En outre, le taux des anticorps anti-ADN natif est bien corrélé avec l'existence d'une atteinte rénale grave et à l'évolutivité du LES.

Nous avons noté chez nos patients lupiques l'absence des Ac anti-ADNn en présence des atteintes rénales, des résultats similaires ont été signalés par **Schrivastava et al (2011)**, qui ont démontré que les autres Ac anti-nucléaires peuvent apporter en l'absence des Ac anti DNA un élément de diagnostic et de surveillance comme les Ac anti SSA et anti Sm.

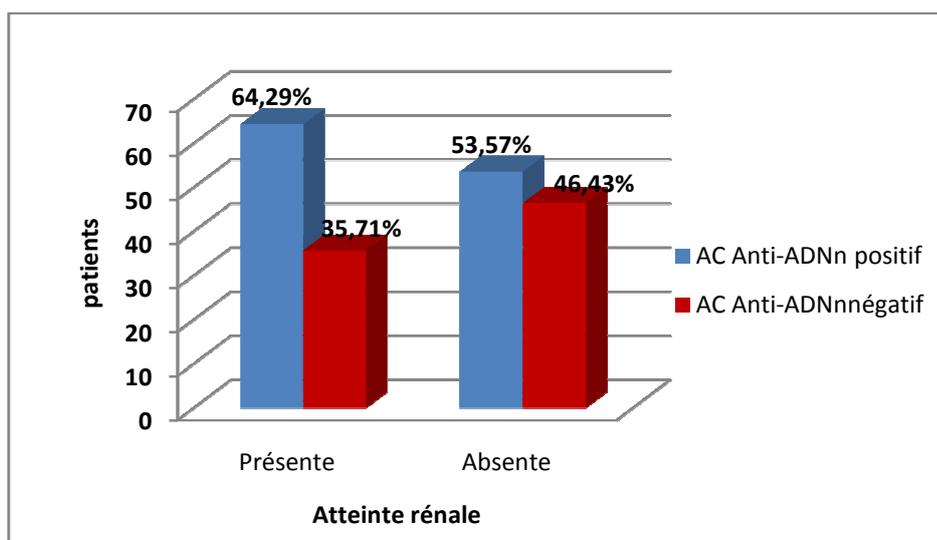


Figure 17 : Représentation graphique du dosage des Ac anti-ADN natif chez les patients lupique qui présents des atteintes rénales.

2.5-L'aspect de la fluorescence et la nature des Ac détectés :

L'aspect homogène de la fluorescence est présent chez 86,66% de nos malades, marquant la présence des auto-anticorps Anti ADNn, également cet aspect est enregistré chez 53,33% des patients présentant les Ac Anti-ENA (figure 18), l'aspect moucheté correspond 92,9% de malades ayant des Ac Anti-ENA et 40,74% malades montrent des Anti-ADNn (figure 18). Ces résultats sont en accord avec ceux rapportés par **Magdelaine et al (2006)**, qui ont montré que le LED se caractérise par l'aspect le plus souvent moucheté ou homogène, et que l'aspect homogène correspond aux AC Anti-ADNn, et le moucheté correspondant aux Ac anti- ENA6.

Par contre 53% de nos patients présentant l'aspect moucheté, ce dernier correspondant aux ENA, et 40% de malades montrent l'aspect homogène qui est repéré par les ADNn. D'après **Renaudineau et al (2008)**, les Ac anti-ADN représentent 2/3 de l'aspect moucheté par rapport à l'aspect homogène, en plus ces deux aspects se superposent quand plusieurs ANA coexistent dans le même sérum.

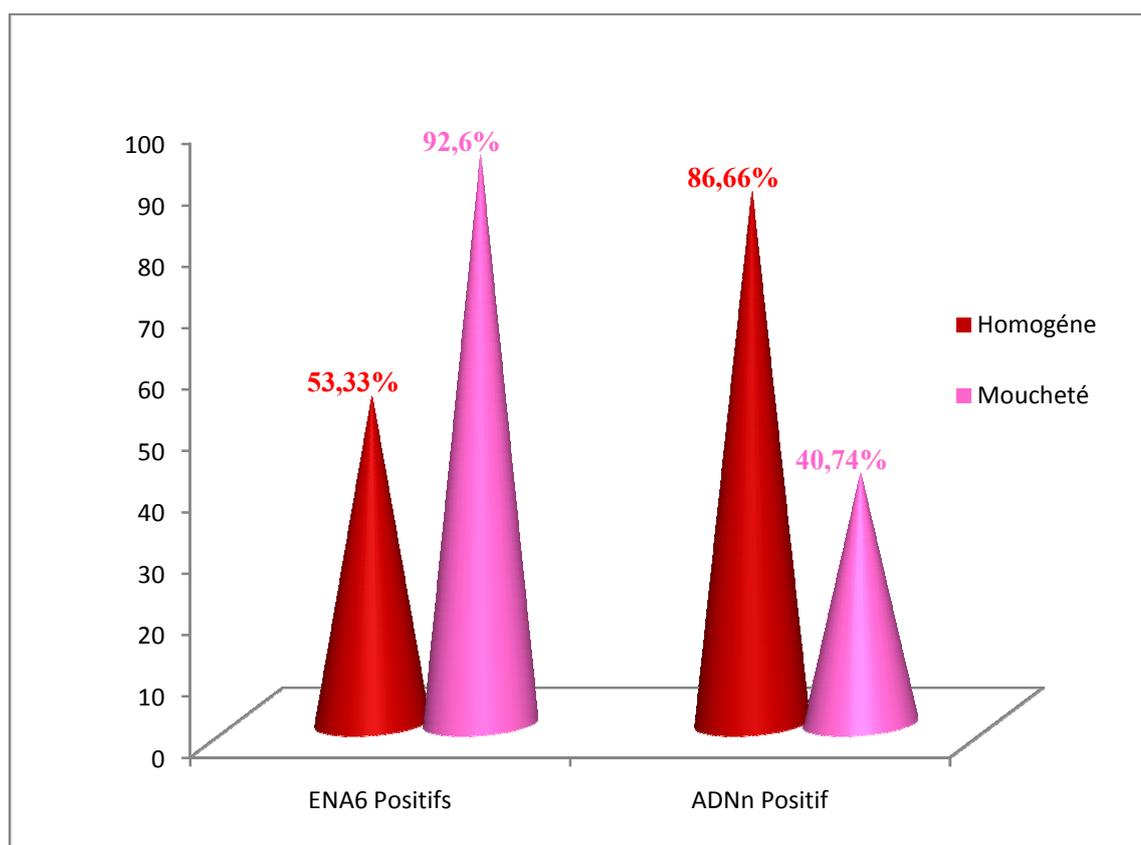


Figure 18: Répartition des patients selon l'aspect de fluorescence et la nature des Ac détectés.

CONCLUSION

Au terme de notre travail, nous avons constaté que :

Le lupus érythémateux systémique (LES) est une des maladies auto-immunes plus fréquemment rencontrées. Sa prévalence est estimée entre 50 et 250 cas pour 100 000 habitants, Il touche électivement l'adulte jeune, avec une très nette prédominance féminine puisque le *sexe ratio* est de 9 femmes pour 1 homme.

Le LES est une maladie non spécifique d'organe et hétérogène dont tous les organes peuvent être touchés, mais il existe une prédilection pour la peau et des articulations, avec notamment des néphropathies. Le début d'un LED peut être progressif, marqué par l'apparition successive de plusieurs signes cliniques, ou assez brutal, déclenché par une exposition solaire, une grossesse, un épisode infectieux, un traumatisme psychique ou physique ou la prise d'un médicament.

Compte-tenu du caractère très polymorphe du lupus érythémateux systémique, un certain nombre de critères cliniques ont été établis afin de permettre plus facilement l'établissement du diagnostic positif de cette affection. Ces critères diagnostiques sont certainement imparfaits, mais peuvent toutefois être considérés comme fort utiles, surtout s'ils sont complétés par un certain nombre de signes biologiques dont l'association peut devenir pathognomonique.

Notre étude est une contribution à la recherche de marqueurs biologiques fiables en vue d'améliorer le diagnostic et le suivi du LES. Les anticorps antinucléaires sont les principaux marqueurs des maladies auto-immunes non spécifiques d'organe leur intérêt :

- aide au diagnostic clinique
- suivi de l'évolution d'une MAI sous traitement (taux des anti-DNA dans le LES)
- valeur pronostique de certaine auto Ac (SSA dans le lupus néonatal)

Le test le plus sensible et le plus utilisé pour LES c'est les Ac anti-antigènes nucléaires solubles ou ENA (SSA (Ro), SSB, anti-Sm, RNP, Scl70 et Jo1) et les Ac anti-DNA natif. Donc il ya deux types de techniques: IFI et Elisa (méthode enzymatique quantitative), Il en ressort en premier lieu que les anticorps anti-DNA et les anti-Sm sont les plus spécifiques au lupus érythémateux systémique et leurs présences précèdent l'apparition d'une poussée de la maladie.

D'autres études portant sur un plus grand échantillon sont nécessaires pour confirmer l'implication de ces auto-anticorps. Il apparait donc que ces auto-anticorps vont prendre une part croissante dans le diagnostic et le suivi du lupus. Même si des études complémentaires sont nécessaires, ils ont dès à présent un réel intérêt en pratique médicale. Ils doivent être recherchés en cas de suspicion clinique de LES.

Chapitre I

Synthèse bibliographique

Chapitre II

Matériels et Méthodes

Chapitre III

Résultats et Discussion



Annexes

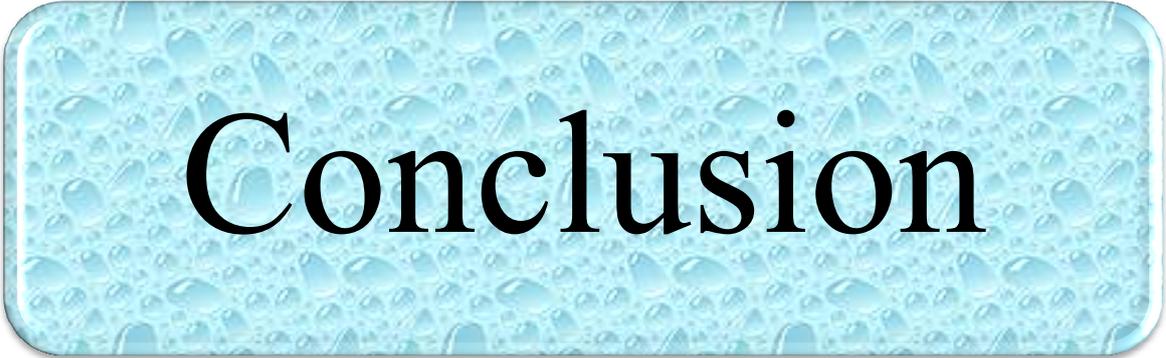


Références

Abréviations



Glossaire



Conclusion

Références

- 1- **ALPA P, BENTO L, CUADRADO MJ, et al., 2003.** Anti-dsDNA, anti-Sm antibodies, and the lupus anticoagulant: Significant factors associated with lupus nephritis. *Ann Rheum Dis*; 62:556-60.
- 2- **AMOURA Z et PIETTE JC., 2000.** Le lupus érythémateux systémique: aspects cliniques. *Médecine Thérapeutique*; 6(7):547-553.
- 3- **ARNAUD L, FAGOT JP, PAITA M, MATHIAN A, FAGOT-CAMPAGNA A, AMOURA Z., 2013.** Incidence and prevalence of systemic lupus erythematosus: a 2010 nation-wide population-based study using French National Administrative databases. *Arthritis Rheum*; 65(10): 1067.
- 4- **BEHIN A et PRADAT P-F., 2002.** Manifestations neurologiques des maladies générales. Dans *Neurologie*. Rueil-Malmaison : Doin, p. 287-290.
- 5- **BERTSIAS GK, PAMFIL C, FANOURIKIS A, BOUMPAS DT., 2013.** Diagnostic criteria for systemic lupus erythematosus: has the time come? *Nature reviews Rheumatology*;9(11):687-94. Epub 2013/07/11.
- 6- **BESSIS DIDIER, CAMILLE FRANCES, BERNARD GUILLOT et JACQUES GUILHOU., 2007.** Manifestation dermatologique des connectivités, vasculaires et affection systémique apparentées, vol.1, Springer-verlarg France, Paris, p 131-152
- 7- **BONNETBLANC J.-M., 2012.** Lupus érythémateux disséminé. Syndrome des antiphospholipides : *Annales de dermatologie et de vénéréologie*. Elsevier Masson ; 139, A102—A111
- 8- **CANNO NE. S., 2001.** Propriétés du laboratoire d'immunologie. Thèse doctorat ; CHRU de Lille. France.
- 9- **CARMIER D, MARCHAND-ADAM S, DIOT P, et al., 2008.** Atteinte respiratoire au cours du lupus érythémateux systémique. *Revue des Maladies Respiratoires*; 25(10): 1289-1303.
- 10- **COLLEGE FRANÇAIS DES ENSEIGNANTS EN RHUMATOLOGIE., 2008.** Lupus érythémateux disséminé. Syndrome des antiphospholipides. Dans *Rhumatologie*. Paris : Elsevier Masson, p. 137-156.
- 11- **COOK H. T., 2001.** Déficit En Complément, Maladie lupique et apoptose flammation *Médecine-Sciences .Actualités Néphrologiques*, p.38-44.
- 12- **GHEDIRAI, SAKLY W et JEDDI M., 2002 :** Caractéristiques cliniques et sérologiques du lupus érythémateux systémique : à propos de 128 cas. *Pathol Biol.*, 50: 18-24.
- 13- **GOROCHOV GUY et PAPO THOMAS., 2000.** *Immunologie*. France: Wolters Kluwer, p311.

Références

- 14- **GUILLEVIN LOIC., 2014.** Livre de l'interne en médecine interne .2e édition. Paris: Lavoisier, p179.
- 15- **E. M. TAN et H. G. KUNKEL., 2006.** Characteristics of a soluble nuclear antigen precipitating with sera of patients with systemic lupus erythematosus. *J. Immunol.* 1966. 96: 464-471, *J Immunol, Feb 1; 176 (3):1297 -304.*
- 16- **E. M. TAN, A. S. COHEN, J. F. FRIES, A. T. MASI, D. J. MCSHANE, N. F. ROTHFIELD, J. G. SCHALLER, N. TALAL, et R. J. WINCHESTER.** The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus, *Arthritis Rheum.* 25:1271-1277 (1982).
- 17- **FAKHOURI F et LESAVRE P., 2007.** Traitements actuels des néphropathies lupiques. *Revue du Rhumatisme;* 74(8): 759-764.
- 18- **FRANS C, BARETE S, PIETTE JC., 2008.** Manifestation dermatologique de lupus. *Rev Med interne;* 29 :701-9
- 19- **FOURNEL S et MULLER S., 2000.** Les auto-anticorps dans le lupus. *Médecine Thérapeutique;* 6(7): 537-546.
- 20- **FUSIO F, BOHEN EM, YUAN CM, WELCH PG., 1998.** Review of thrombotic thrombocytopenic purpura in the setting of systemic lupus erythematosus. *Semin Arthritis Rheum;* 28: 1–9.
- 21- **HACHULLA E, MORANNE O et LIOTE F., 2005.** Principes généraux des traitements du lupus érythémateux systémique et mesures préventives. *Revue du Rhumatisme;* 72(6): 537-545.
- 22- **HADDOUK S., BENAYED M., BAKLOUTI S., HACHICHA J., BAHLOUL Z., MASMOUDI H., 2005.** Auto-anticorps dans le lupus érythémateux systémique : profil et corrélations cliniques, Laboratoire d'immunologie, CHU Habib-Bourguiba de Sfax, Service de rhumatologie, Service de néphrologie, Service de médecine interne, CHU Hédi-Chaker de Sfax 3029 Sfax, *Tunisie.*, 53: 311–317.
- 23- **HUMBEL RL., 2003.** Stratégie d'étude des anticorps anti-nucléaires. *Biotribune.*, 7: 18-19.
- 24- **KAHN M-F, BARDIN T, MEYER O, et al., 2009.** Glomérulonéphrite lupique. Dans *L'actualité rhumatologique 2009.* Meppel : Elsevier-Masson, p. 21-42.
- 25- **KALLENBERG C.G.M, STEGEMAN CA, BOOTSMA H, BIJIL M, LIMBURG PC., 2006.** Quantification of autoantibodies in systemic autoimmune disease: clinically useful? *Lupus;* 15:397–402

Références

- 26- **KARRAS A., 2012** : Atteinte rénale du lupus érythémateux disséminé. *Hôpital Européen Georges-Pompidou, service de néphrologie, 75015 Paris, France.*, **41**: 260–266.
- 27- **KORGANOW et MARTIN., 2002.** Lupus Erythemateux Systemique ;. [Internet Communication]
URL:http://udsmed.ustrasbg.fr/emed/courses/MODULE08/document/lupus_erymateux.pdf?cidReq=MODULE08 (page consulté en janvier **2009**).
- 28- **LOUZIR B, OTHMANI S, BEN ABDELLAH HAFIDH N., 2003.** Groupe d'étude du lupus érythémateux systémique en Tunisie. Etude multicentrique nationale à propos de 295 observations, *Rev. Medecine interne*; 24: 768-74.
- 29- **LOCHOUARN MARTINE., 2012.** Le lupus : mieux compris et mieux traité | Actualité | LeFigaro.fr – Santé.
- 30- **LIPSKER DAN ET SIBILIA JEAN., 2013.** lupus érythémateux. France: Elsevier Masson, p.40-45.
- 31- **MATHIAN. A et KOUTOUZOV S., 2008.** Interféron alpha : une cytokine clé dans la physiologie du lupus systémique ; *rev médecine interne* ; 29(9) : 696-700.
- 32- **A. MATHIAN, L. ARNAUDC, Z. AMOURA., 2014.** Physiopathologie du lupus systémique : le point en 2014 Etiopathogenesis of systemic lupus erythematosus: A 2014 update, *La Rev de médecine interne* ;35: 503–511
- 33- **MAGDELAINE C., VIGNERON C., DEGENNE D., 2006** : Aspects des anticorps antinucléaires sur les cellules HEp-2. *Rev Fr Lab.* **36** (384): 33-41.
- 34- **MEYER O, KAHN MF., 2000.** Lupus érythémateux disséminé. In: Kahn MF, Peltier AP, Meyer O, Piette JC, editors. *Les maladies systémiques*. Paris: Flammarion-Médecine Sciences;p.131–368.
- 35- **MEYER O., 2004.** Critères de classification: mode d'emploi pour le diagnostic de lupus systémique.. [Internet Communication] URL: www.rhumatologie.asso.fr/05bibliotheque/publications/pub-72-142-149.asp (page consulté en juillet **2008**).
- 36- **MEYER O., 2005** Lupus érythémateux systémique. EMC - Rhumatologie-Orthopédie; 2(1) : 1-32.
- 37- **MOK CC., 2003.** Lau CS. PATHOGENESIS of systemic lupus erythematosus.J Clin Pathol; 56: 481-90.
- 38- **Mc MURRAY RW. MAY W., 2003.** Sex hormones and systemic lupus erythematosus. Review and mete-analysis. *Arthritis Rheum.*; 48: 2100-10

Références

- 39- **Mc CARTY DJ., MANZI S., MEDSGER Jr TA., RAMSEY R., 1995.** Laporte RE, Kwoh CK. Incidence of systemic lupus erythematosus. Race and gender differences. *Arthritis Rheum*; 38:1260–70.
- 40- **OTHMANI S., LOUZIR B., BAHRI F., BAHRI M., BAHRI M., BEN ABDELHAFIDH N., BEN DRIDI M., BEN HASSINE L., BOUSLAMA K., BOUSSEMA F., CHEOUR I., CHERIF O., HADDAD A., HAMMAMI S., HAMZA M., JEMNI L., KAMMOUN MR., KETARI S., KHALFALLAH N., KHALFAOUI M., KSONTINI I., LAATAR A., MAHJOUB S., MOKHTAR I., M'RAD S., NOUIRA R., ROKBANI L., SELLAMI S., TOUGOURTI MN., ZAKRAOUI L., 2002:** Lupus systémique chez 24 hommes tunisiens : analyse clinicobiologique et évolutive, *la revue de médecine interne ELSEVIER, Tunisie.*, **23:** 983–990.
- 41- **PETITPIERRE S, AUBERT V, LEIMGRUBER A, SPERTINI F, BART PA., 2009.** Utilité de la recherche des auto-anticorps dans la pratique quotidienne, *Rev Med Suisse*;5:823-31.
- 42- **PETRI M., 2002:** Epidemiology of systemic lupus erythematosus. *Best Pract Res Clin Rheumatol.*, **16:** 58-847.
- 43- **PERDRIGER A., 2005.** Génétique du lupus et environnement. *Revue du Rhumatisme*; 72(2): 120-125.
- 44- **RICHEZ C., 2005.** Physiopathologie du lupus. *Lupus: actualités Service de Rhumatologie*, p.1-4.
- 45- **RICHEZ C et al., 2011.** Role for toll-like receptors in autoimmune disease: the example of systemic lupus erythematosus. *Joint Bone Spine*; 78: 124-130.
- 46- **RENAUDINEAU Y, RENAUDINEAU E, LEMEUR Y., CHAUVEAU A., YOUINOU P., 2008:** intérêt des nouveaux examens sérologiques pour la néphropathie lupique. *Immbio.*, **23(3):** 137-142.
- 47- **SÈVE PASCAL, KODJIKIAN LAURENT., 2013.** Oeil et Maladies systémiques. Paris: Lavoisier, p157.
- 48- **SHRIVASTAVA A, KHANNA D., 2011** Autoantibodies in systemic lupus erythematosus: Revisited. *Indian Journal of Rheumatology*; 6(3): 138-142.
- 49- **WAHL D, SAADI L, PERRET-GUILLAUME C., 2007** Syndrome des antiphospholipides. Classification actuelle et indications thérapeutiques. *Médecine Thérapeutique*; 13(2): 111-121.
- 50- **WEILL B et BATTEUX F., 2003.** Le lupus érythémateux systémique. Dans *Immunopathologie et réactions inflammatoires. Belgique : De Boeck université*, p.114-132.

Références

ANNEXE 1

- **Tableau II. Classification internationale des néphropathies lupiques, d'après KAHN M-F, BARDIN T, MEYER O et al (KAHN et al ; 2009)**

Classe I	Glomérulonéphrite mésangiale à dépôts minimes Glomérule normal en microscopie optique (MO) mais présence de dépôts immuns en immunofluorescence (IF)
Classe II	Glomérulonéphrite proliférative mésangiale Hypercellularité mésangiale pure en MO avec dépôts mésangiaux en IF
Classe III	Glomérulonéphrite focale Lésions actives ou inactives, atteinte segmentaire ou globale, avec ou sans altération mésangiale, touchant moins de 50% des glomérules A. Lésions prolifératives focales actives B. Lésions actives et chroniques : glomérulonéphrite focale proliférative et scléreuse C. Lésions chroniques inactives : glomérulonéphrite focale scléreuse
Classe IV	Glomérulonéphrite diffuse - Segmentaire quand plus de 50% des glomérules touchés ont des lésions segmentaires - Globale quand plus de 50% des glomérules touchés ont des lésions globales 1. Lésions actives : glomérulonéphrite diffuse, segmentaire ou globale, et proliférative 2. Lésions actives et chroniques : glomérulonéphrite diffuse, segmentaire ou globale, proliférative et scléreuse 3. Lésions inactives et chroniques : glomérulonéphrite diffuse, segmentaire ou focale et scléreuse
Classe V	Glomérulonéphrite extramembraneuse Les dépôts sous-épithéliaux touchent plus de 50% de la surface glomérulaire dans plus de 50% des glomérules. Classe V peut s'associer à une classe III ou IV.
Classe VI	Sclérose glomérulaire avancée 90% ou plus des glomérules sont globalement scléreux

ANNEXE 1

- **Tableau III : Critères de classification révisés du syndrome des antiphospholipides (WAHL et al ; 2007)**

Signes cliniques

1. Thrombose

Un ou plusieurs épisodes symptomatiques de thrombose artérielle, veineuse ou d'un petit vaisseau dans n'importe quel tissu ou organe.

2. Manifestations obstétricales

- une ou plusieurs morts inexpliquées, fœtus morphologiquement normal, à la dixième semaine de gestation ou au-delà ou

- une ou plusieurs naissances prématurées d'un nouveau-né morphologiquement normal avant la 34^{ème} semaine de gestation à cause d'une éclampsie ou prééclampsie grave ou à une insuffisance placentaire sévère ou

- au moins trois avortements spontanés consécutifs avant la 10^{ème} semaine de gestation sans cause anatomique ou hormonale maternelle et sans cause chromosomique maternelle ou paternelle

Signes biologiques

1. Anticoagulant circulant ou antiprothrombinase à deux reprises au moins espacées de douze semaines selon les recommandations de l'ISTH (International Society of Thrombosis and Haemostasis)

2. Anticorps anticardiolipines d'isotype IgG et/ou IgM détectés à deux reprises au moins, espacées de douze semaines ou plus, par un Elisa standardisé, à titre moyen ou élevé

3. Anticorps anti- β 2 glycoprotéine-I d'isotype IgG et/ou IgM détectés à deux reprises au moins, espacées de douze semaines ou plus, par un Elisa standardisé, à titre moyen ou élevé.

ANNEXES 01

Tableau IV : Critères de classification du lupus érythémateux systémique proposé par le Collège Américain de Rhumatologie (ACR), 1982, modifié en 1997 (MEYER, 2004), (TAN *et al.*, 1982)

Critères	Définitions
1. Eruption	malaire Erythème malaire en aile de papillon
2. Lupus discoïde	Erythème en placards avec des squames kératosiques adhérentes
3. Photosensibilité	Eruptions cutanées résultant d'une réaction inhabituelle au soleil
4. Ulcérations buccales ou nasopharyngiennes	Ulcères oraux ou nasopharyngées habituellement douloureux
5. Polyarthrite non érosive	Impliquant au moins deux articulations périphériques et caractérisée par des douleurs, une augmentation de volume ou un épanchement articulaire
6. Atteinte des séreuses (pleurésie ou péricardite)	– Pleurésie : épanchement pleural – Péricardite : documenté par un E.C.G.
7. Atteinte rénale – Protéinurie > 0,5 g/jour	– Présence de cylindres dans les urines (G.R., hémoglobine, leucocytes, cellules tubulaire...)
8. Atteinte neurologique	– Psychose – Convulsion
9. Atteinte hématologique	– Anémie hémolytique avec une hyperréticulose – Ou leucopénie < 4000/mm ³ – Ou lymphopénie < 1500/mm ³ – Ou thrombocytopénie < 100 000/mm ³ En l'absence de cause médicamenteuse
10. Désordre immunologique	– Présence d'anticorps anti-ADN natif – Ou d'Ac Anti-Sm – Ou fausse sérologie syphilitique
11. Anticorps antinucléaires	Taux anormal d'anticorps antinucléaires en l'absence de médicaments inducteurs de lupus

ANNEXE 2

▪ NOVA Lite® HEp-2 ANA Kits/Substrate Slides

• Contenu du coffret

1. Lames HEp-2 ; 12 puits/lame ou 6 puits/lame

• Les coffrets contiennent :

2. Lames HEp-2 (cellule épithéliale humaine) ; 12 puits/lame ou 6 puits/lame, avec dessiccateur

3. Conjugué anti-IgG-FITC humain (chèvre), fluorescéine marquée dans du tampon contenant du bleu Evans et 0,09 % d'azide de sodium, 15 ml

4. Contrôl positif ANA titrable, 1 flacon de solution tampon contenant 0,09 % d'azide de sodium et du sérum humain prédilué contenant des auto-anticorps anti-HEp-2, 0,5 ml

5. Contrôl Négatif, 1 flacon de solution tampon contenant 0,09 % d'azide de sodium et du sérum humain prédilué ne contenant aucun auto-anticorps anti-HEp-2, 0,5 ml

6. Concentré de PBS II (40x), suffisant pour 2 000 ml

7. Milieu de montage, 0,09 % d'azide de sodium, 7 ml

8. Lamelles couvre-objet

• Matériel fourni (coffret)

20 12-puit sur lames HEp-2

1 15 ml Conjugué anti-IgG FITC humain

1 0,5 ml Contrôl positif ANA titrable

1 0,5 ml Contrôl Négatif

2 25 ml Concentré de PBS II (40x)

1 7 ml de Milieu de montage

1 20 Lamelles couvre-objet

• Matériel fourni (Lames seules) :

20 x lames de 12 puits recouverts de cellules HEp-2

• Autre matériel nécessaire non fourni

Micropipettes pouvant distribuer un volume de 15 à 1000 l

Eau distillée ou déionisée

Pissettes ou pipettes Pasteur

Chambre humide

Récipient de 1 l (pour diluer le PBS II)

Bocal Coplin

Microscope à fluorescence avec excitatrice de 495 nm et filtre interférentiel de 515 nm

ANNEXE 2

▪ **QUANTA Lite™ ssDNA ELISA double brin ADN ELISA**

• **Contenu du coffret**

1. Plaque de microtitration ELISA revêtue d'antigène ADNsb, avec portoir de 12 barrettes de 8 micropuits en polystyrène sécables, dans un sachet d'aluminium avec un dessiccant
2. Contrôle Négatif pré-dilué, 1 flacon de 1,2 ml de sérum humain sans anticorps humains anti-ADNdb, dans du tampon avec du stabilisateur
3. Contrôle ELISA ADNsb faiblement positif pré-dilué, 1 flacon de 1,2 ml de sérum humain avec des anticorps humains anti-ADNdb, dans du tampon avec du stabilisateur
4. Contrôle ELISA ADNdb fortement positif pré-dilué, 1 flacon de 1,2 ml de sérum humain avec des anticorps humains anti-ADNdb, dans du tampon avec du stabilisateur
5. Diluant d'échantillons HRP, teinté en rose, 1 flacon de 50 ml contenant du tampon Tris salin, du Tween 20, des stabilisateurs de protéines et des conservateurs
6. Tampon de lavage HRP concentré 40X – tampon Tris salin avec du Tween 20, teinté de rouge, 1 flacon de 25 ml. Consulter le paragraphe “Méthode” pour la dilution.
7. Conjugué IgG-HRP, anticorps de chèvre anti-IgG humaines dans du tampon avec des stabilisateurs de protéines et des conservateurs, teinté en bleu, 1 flacon de 10 ml
8. TMB Chromogène, avec stabilisateurs, 1 flacon de 10 ml
9. Solution d'arrêt HRP, acide sulfurique 0,344M, non teinté, 1 flacon de 10 ml

• **Matériel fourni**

- 1 Plaque microtitration ELISA ADNsb (12-1 x 8 puits), avec support
- 1 1,2 ml Contrôle ELISA Négatif pré-dilué
- 1 1,2 ml Contrôle ELISA faiblement positif ADNsb pré-dilué
- 1 1,2 ml Contrôle ELISA fortement positif ADNsb pré-dilué
- 1 50 ml diluant HRP pour échantillons
- 1 25 ml tampon de lavage HRP concentré 40X
- 1 10 ml conjugué anti-IgG humaines de chèvre
- 1 10 ml substrat TMB
- 1 10 ml solution d'arrêt HRP (acide sulfurique 0,344M)

• **Autre matériel nécessaire non fourni**

- Pipettes 5, 100, 200-300 et 500 µl , Cônes jetables
- Tubes de 4ml pour la dilution de sérum
- Eau distillée ou déionisée
- Récipient de 1 litre pour le tampon de lavage HRP dilué
- Lecteur ELISA avec filtre de 450nm (et 620nm pour les lectures à double longueur d'ondes)

ANNEXE 2

▪ **Technique crithidia luciliae ;**

- 1/ 6puits sur lames dsDNA Crithidia luciliae.
- 2/ 4 ml conjugué anti-IgG FITC humain.
- 3/ 0.5 ml ADN double brin positive.
- 4/ 0.5 ml contrôle négatif des systèmes IFA.
- 5/ 25 ml concentré de PBS (40x).
- 6/ 7 ml de milieu de montage.
- 7/ 10 lamelles couvre-objet.
- 8/ micropipettes pouvant distribuer un volume de 15 à 1000 μ l.
- 9/ eau distillés ou déionisée.
- 10/ pissettes ou pipettes pasteur.
- 11/ chambre humide.
- 12/ récipient de 1l (pour diluer le PBS).
- 13/ bocal coplin.
- 14/ microscope à fluorescence avec excitation de 495 nm et filtre interférentiel de 515 nm.

ANNEXE 3

➤ Récapitulatif des résultats des 42 patients

Patient	Sexe	Age (Ans)	Service	Clinique	FAN	ENA 6	ADN	
							IFI	ELISA
1	F	34	Médecine interne	Atteinte articulaire, et rénale.	M 1/320	SSA, SSB		(+)
2	F	32	Médecine interne	LED suspicions	M 1/640	SSA, RNP	(-)	(-)
3	F	23	Médecine interne	lupus en poussé avec atteinte rénale	H 1/1000	(-)		(+)
4	F	20	Médecine interne	lupus en poussé	M 1/1000	SSA, SSB, Sm	(-)	(-)
5	F	29	Dermatologie	photosensibilité, érythème, arthralgie	M 1/1000	SSA, SSB,		(+)
6	F	42	Médecine interne	lupus contrôle avec atteinte rénale, articulaire et cutanée	M 1/160	(-)	(-)	(-)
7	F	33	Médecine interne	lupus contrôle avec atteinte rénale	H 1/320	(-)		(+)
8	F	28	Dermatologie	Photosensibilité	H 1/320	(-)		(+)
9	F	43	Médecine interne	lupus contrôle	M 1/160	SSA, RNP	(-)	(-)
10	F	20	Médecine interne	lupus contrôle avec atteinte rénale	M 1/1000	SSA, SSB	(-)	(-)
11	F	41	Médecine interne	Arthralgies, protéinurie, et érythème en aile de papillon	M 1/320	SSA, Sm,RNP	(-)	(-)
12	M	32	Externe	lupus contrôle avec atteinte rénale	H 1/160	(-)		(+)
13	F	43	Dermatologie	photosensibilité, érythème en aile de papillon, arthralgie	M 1/160	SSA, Sm	(-)	(-)
14	F	47	Médecine interne	lupus en poussée avec atteinte rénale et articulaire	M 1/320	(-)		(+)
15	F	40	Dermatologie	Atteinte rénale, photosensibilité et érythème et arthralgie	M 1/160	SSA, Sm	(-)	(-)
16	F	47	Médecine interne	atteint articulaires,	H 1/320	SSA, Sm	(+)	(-)
17	F	50	Médecine interne	Syndrome de Raynaud, arthrite	M 1/160	SSA, SSB, Sm	(-)	(-)
18	F	28	Externe	Arthrite, Syndrome de Raynaud	M 1/640	SSA, Sm	(-)	(-)
19	F	22	Externe	lupus en poussé avec atteinte rénale et articulaire et cutanée	M 1/160	SSA	(-)	(-)
20	F	51	Médecine interne	Arthrite	H 1/160	SSA	(+)	
21	F	28	Médecine interne	Arthralgies	M 1/320	SSA,SSB, Jo-1		(+)
22	F	25	Médecine interne	lupus en poussé avec atteinte rénale et articulaire et cutanée	M 1/1000	SSA, Sm		(+)
23	F	31	Médecine interne	Atteinte articulaire, ulcération buccale	M 1/1000	SSA, SSB, Sm		(+)
24	F	52	Externe	lupus contrôle avec atteinte rénale	M 1/320	SSA		(+)
25	F	29	Médecine interne	lupus contrôle avec atteinte rénale	H 1/640	(-)		(+)

ANNEXE 3

➤ Récapitulatif des résultats des 42 patients

26	F	28	Médecine interne	lupus contrôle avec Arthrite, photosensibilité	H 1/320	SSA		(+)
27	F	20	Externe	Erythème en aile de papillon, arthralgie	H 1/640	SSA,SSB	(-)	
28	F	43	Médecine interne	Arthrite,	M 1/320	SSA,		(+)
29	F	30	Médecine interne	Atteinte articulaire, thrombopénie	H 1/640	(-)		(+)
30	F	31	Médecine interne	Arthralgie, protéinurie,	H 1/320	SSA,		(+)
31	F	37	Médecine interne	Arthrite	M 1/1000	SSA, sm	(-)	(-)
32	F	37	Externe	Atteinte rénale, Arthralgie	H 1/320	SSA, SSB,		(+)
33	F	31	Médecine interne	lupus en poussé avec atteinte articulaire et cutanée	M 1/160	SSA, SSB	(-)	(-)
34	F	40	Médecine interne	Arthrite, atteinte articulaires	M 1/1000	SSA, SSB,	(-)	(-)
35	F	34	Médecine interne	Arthrite, Photosensibilité	H 1/1000	SSA,	(-)	(-)
36	F	33	Dermatologie	Rache malar, ulcération buccale,	M 1/320	SSA, Sm	(-)	(+)
37	F	39	Dermatologie	photosensibilité	H/160	Sm,RNP		(+)
38	F	44	Dermatologie	Erythème, photosensibilité,	M 1/320	SSA, SSB	(-)	(-)
39	F	23	Médecine interne	Lupus en poussé avec atteinte rénale	M 1/1000	SSA, Sm	(-)	(-)
40	M	41	Médecine interne	Arthralgie, ampli pulmonaire	M 1/1000	SSA, SSB		(+)
41	F	37	Médecine interne	Syndrome de Raynaud, arthralgie	M 1/320	SSA, Sm		(+)
42	F	40	Dermatologie	photosensibilité	H 1/320	(-)		(+)

ANNEXE 4

Tableau X : la répartition des patients selon les services :

service	Effectif
médecine interne	28
Dermatologie	8
Externe	6
Totale	42

Tableau XI : la répartition des patients selon la tranche d'âge :

Tranche d'age	Effectif	%
[20 - 26[7	16,66
[26 - 32[11	26,19
[32 - 38[9	21,43
[38 - 44[9	21,43
[44 - 50[3	7,14
[50 - Plus 50	3	7,14

Tableau XII : Répartition des cas selon l'aspect de fluorescence et le titre en AC Anti nucléaire (FAN) :

FAN	>1/160	>1/320	>1/640	>1/1000
Moucheté	7	9	2	9
Homogène	3	7	3	2

Tableau XIII : Répartition des patients selon la présence des Ac Anti-ENA6 et leurs pourcentages :

Auto-AC	Effectif	%
AC Ant-SSA	31	73,8
AC Ant-SSB	13	30,95
AC Ant-Sm	13	30,95
AC Ant-Jo-1	1	2,38
AC Anti-RNP	4	9,52

Tableau XIV: Répartition selon la positivité des Ac anti-ADN natifs :

Ac anti ADN natifs positifs	effectif	%
OUI	24	72,91
NON	18	27,08

Tableau XV: Répartition de patients selon l'aspect de fluorescence et la nature des Ac détectés :

FAN	Homogène	Moucheté
ENA6 Positifs	(53,33) 8	(92,6) 25
ADNn Positif	(86,66) 13	(40,74) 11
total	15	27

GLOSSAIRE

Anticorps anti-nucléaires (AAN) sont des auto-anticorps réagissant avec divers constituants du noyau cellulaire (ADN, histones, centromères, antigènes nucléaires solubles)

Alopécie : La perte des cheveux

Anticorps : Les protéines produites par le système immunitaire de l'organisme pour le défendre contre l'infection et autres invasions « étrangères ».

Anticorps anti-Jo-1 : sont dirigés contre l'histidyl-t-RNA synthétase. Le système d'anticorps anti-Jo-1 a été décrit pour la première fois en 1980 par Nishikai et Reichlin dans le sérum d'un patient présentant une polymyosite et une fibrose pulmonaire interstitielle, qui se prénommeait John, d'où le nom d'anti-Jo-1.

Anticorps anti-phospholipides sont dirigés contre les phospholipides ou contre des protéines plasmatiques isolées ou complexées aux phospholipides.

Anti-Ro/SSA et anti-La/SSB : Les anticorps anti-Ro/SSA et anti-La/SSB sont dirigés contre des protéines faisant partie d'un complexe antigénique hétérogène, le complexe Ro/La, constitué de trois protéines différentes (52 kD Ro, 60 kD Ro et 48 kD La) et de petits ARN (Y1, Y2, Y3, Y4 et Y5) synthétisés dans le noyau sous le contrôle d'une ARN polymérase III, dont le rôle est peu clair.

Anti-Smith (anti-Sm) : les anticorps anti-Sm ont pour cible des protéines faisant partie d'un sous-groupe de ribonucléoprotéines, les small nuclear ribonuclear protein (snRNP).

Arthrite : Toute affection inflammatoire, aiguë ou chronique, qui atteint les articulations.

Arthralgie : L'arthralgie est une douleur située au niveau des articulations sans que l'on ne constate de modification de l'apparence extérieure de la jointure.

Glomérule : éléments initial du néphron formé d'un poloton de capillaires artériels coiffés par une portion amincie du tube urinaire.

Erythème : est la lésion dermatologique la plus courante ; caractérisée par une rougeur congestive de la peau

Hep-2 : Ces cellules sont issues de la culture tumorale d'origine humaine (carcinome laryngé). Elles possèdent un noyau de grande taille à plusieurs nucléoles, ce qui améliore la définition des aspects de fluorescence. Leur culture sur lame permet d'obtenir des cellules à différents stades du cycle cellulaire favorisant ainsi la détection des AAN dirigés contre des cibles uniquement présentes à certaines phases du cycle.

Kinétoplaste : est un réseau d'ADN circulaire (appelé ADNk) à l'intérieur d'une grosse mitochondrie (nommé kinoplaste) qui contient de nombreuses copies du génome mitochondrial. La structure kinétoplaste la plus commune est celle d'un disque, mais a été observé dans d'autres arrangements. Les kinétoplastes ne se trouvent que chez les protozoaires de la classe Kinetoplastida.

Livedo réticulaires : Coloration marbrée de la peau, habituellement sur les poignets et les genoux.

Lupus signifie loup en latin :

GLOSSAIRE

L'éruption cutanée du visage rappelle les masques de loup portés lors du carnaval de Venise.

Lupus discoïde : érythème circonscrit avec un aspect papulo-squameux en périphérie et dont le centre subit une évolution atrophique. Ces lésions, uniques ou multiples, bien limitées, siègent surtout au visage.

Maladie auto-immune : Une maladie par laquelle le système immunitaire attaque des éléments du propre corps du malade.

Péricardite : Inflammation du feuillet entourant le cœur.

Pleurésie : Inflammation de la plèvre.

Protéinurie : Présence de protéines dans l'urine.

Purpura : Taches rouges sous la peau dues à l'inflammation de petits vaisseaux sanguins ou à un taux très bas de plaquette.

Raynaud correspond à une ischémie angiospastique survenant lors d'une exposition au froid. Il se manifeste cliniquement par la triade successive pâleur, cyanose et érythème des doigts, des orteils, du nez ou des oreilles lors d'une exposition au froid ou en cas de stress.

Syndrome néphrotique : Sa définition est biologique. Il associe une protéinurie de débit élevé ($>3\text{g/j}$), une hypoalbuminémie ($<30\text{g/l}$) et une hypoprotidémie ($<60\text{g/l}$). Il traduit toujours une atteinte glomérulaire.

TNF-alpha (facteur de nécrose tumorale) : Une cytokine produite par les macrophages, qui rentre dans le processus inflammatoire systémique et la phase de réaction aiguë. Il peut être libéré par les leucocytes, les cellules endothéliales et d'autres tissus en réponse à un dommage.