

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur Et de La Recherche Scientifique



Université de Ghardaïa

N° d'ordre :

N° de série :

Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre

Département de Biologie

Projet de fin d'étude présenté en vue de l'obtention du diplôme de

LICENCE

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Biologie

Spécialité : Biochimie

Thème

Apport de technique ELISA dans le diagnostic des maladies auto-immunes dans la région de Ghardaïa

Par :

Mlle. ADDOUN Noura

Jury :

Mlle. TELLI Alia

Maître Assistant A

Univ. Ghardaïa

Encadreur

Mr. AMMI SAÏD Mustapha

Dr en biologie médicale

Lab. IBN ROCHD

Co- Encadreur

Mme. HAMID OUDJANA Aïcha

Maître Assistant A

Univ. Ghardaïa

Examineur

Année universitaire 2012/2013

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à:

Mes chers parents sur qui j'ai pu compter et me ressourcer d'affection et de bénédictions durant toute ma vie ;

Mon frère Ali Bachir, mes chères sœurs : Mehni, Leila, Yasmine, Fadila, Asma et mes beaux frères : Abd el-Aziz, Bakir, Ahmed et Bahmida ;

Ainsi que mes neveux et nièces, Saïd, Radia, Soundous, Hadjer, Mohamed Dia-Eddine, Mohamed el-Mustapha, Melak, Abdel-Ghani, Tasnime et Mohamed Anes ;

Mes chers amis : Safia, Yasmine, Farah, Aziza et toute mes collègues en 2^{ème} promotion de Biochimie ;

Mes enseignants qui n'ont pas cessé de m'encourager et de m'aider;

A toutes ma famille et toutes les personnes que j'aime

A. Noura

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier Dieu « le tout Puissant » de m'avoir accordé la force et le courage afin de réaliser ce modeste travail.

J'exprime ma plus vive reconnaissance à Mlle. TELLI Alia Maître assistant à l'Université de Ghardaïa, qui a bien voulu accepter de me prendre en charge pour réaliser ce travail dont le mérite lui revient grâce à son aide et ses conseils précieux.

Je remercie vivement Mme. HAMID OUDJANA Aïcha Maître assistant à l'Université de Ghardaïa d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Il m'est agréable de remercier Mr. BOUAL Zakaria Maître assistant à l'Université de KASDI Merbah Ouargla qui est le mérite de choix de ce thème.

Je présente mes remerciements les plus sincères au Laboratoire d'analyse médical « IBN ROCHD » en particulier son directeur Dr. AMMI SAÏD Mustapha de m'avoir accueilli au sein du laboratoire.

J'adresse toute ma reconnaissance aux Messieurs CHICK SALAH A. Kacem., CHICK SALAH A. Wahab Maîtres assistants chargé de cours de mathématique à l'université de Ghardaïa pour leur aide précieuse dans la partie d'analyse statistique.

Un grand merci à toutes personnes qui me soutenues de près ou de loin au cours de la réalisation de ce modeste travail.

Résumé

Pour savoir l'importance de la technique ELISA, notamment dans le diagnostic des maladies auto-immunes qui sont les résultats de la rupture des processus de tolérance protégeant l'hôte contre l'action des lymphocytes auto-réactifs, nous avons effectué cette étude au niveau de laboratoire IBN ROCHD dans la région de Ghardaïa. L'étude touche 773 cas de diagnostic des maladies auto-immunes enregistrés durant l'année 2011. Les auto-anticorps ont été recherchés dans des échantillons de sang des patient par la technique ELISA en utilisant deux appareils VIDAS et TOSOH. Dans un total de 773 cas étudiés, 440 cas sont positifs avec un pourcentage qui dépasse la moitié (56,92%), dont la plupart des cas sont des femmes (82,73%) d'âge moyen de 30 ans (41,14%). Les tests de la recherche des auto-anticorps ont été très demandés en printemps (32,27%).

Mots clés : Auto-anticorps, diagnostic, ELISA, maladies auto-immunes, région de GHARDAIA.

الملخص:

لمعرفة أهمية ELISA، خصوصاً في تشخيص أمراض المناعة الذاتية التي تنتج عن انهيار عملية التسامح التي تحمي المضيف ضد عمل الخلايا الليمفاوية ذاتية التفاعل، أجرينا هذه الدراسة في مختبر ابن رشد في منطقة غرداية. الدراسة شملت 773 حالة من حالات تشخيص أمراض المناعة الذاتية التي سجلت خلال عام 2011. وقد تم البحث عن الأجسام المضادة الذاتية في عينات دم المرضى بواسطة تقنية ELISA وذلك باستخدام نوعين من الأجهزة TOSOH و VIDAS. فيما مجموعه 773 من الحالات التي تمت دراستها، 440 كانت حالات إيجابية مع نسبة تتجاوز النصف (56.92%)، ومعظم الحالات من النساء (82.73%) بمتوسط عمر 30 سنة (41.14%)، ويرتفع الطلب على اختبار الأجسام المضادة الذاتية في فصل الربيع (32.27%).

الكلمات الدالة: الأجسام المضادة الذاتية، التشخيص، ELISA، أمراض المناعة الذاتية، غرداية، ابن رشد.

Abstract

To know the importance of ELISA, especially in the diagnosis of autoimmune diseases which are the result of the breakdown of tolerance process protecting the host against the action of self-reactive lymphocytes. We effectuated this study at IBN ROCHD laboratory in the region of Ghardaïa. The study was affected 773 cases of autoimmune disease diagnosis enregistred during 2011. Autoantibodies were investigated in blood samples of patients by ELISA using tow machines VIDAS and TOSOH. In a total of 773 studied cases, 440 cases were positive with a percentage that exceeds half (56.92%), most cases are women (82.73%) with a mean age of 30 years (41.14%). The researches of antibodies were in high demand in spring (32.27%).

Keywords: Autoantibodies, diagnosis, ELISA, autoimmune diseases, Ghardaïa, IBN ROCHD.

Table des matières

Titre	Page
Introduction générale.....	1
Partie I : Synthèse bibliographique	
Chapitre I:Maladies auto-immunes.....	2
1.1.- Aperçu général sur le système immunitaire.....	2
1.1.1.- Composants du système immunitaire.....	2
1.1.1.1- Cellules.....	2
1.1.1.2- Organes et tissus lymphoïdes.....	7
1.1.2.- Réponse immunitaire.....	9
1.2.- Auto-immunité et les maladies auto-immunes.....	10
1.2.1.- Tolérance.....	10
1.2.2.- Auto-immunité.....	11
1.2.3.- Définition des maladies auto-immunes.....	11
1.2.4.- Facteurs déclenchant.....	12
1.2.5.- Personnes touchées par les maladies auto-immunes.....	13
1.2.6.- Classification des maladies auto-immunes.....	13
1.2.6.1.- Maladies auto-immunes spécifiques d'organes	13
1.2.6.2.- Maladies auto-immunes systémiques (non organo-spécifiques).....	14
1.2.7.- Mécanismes des lésions tissulaires auto-immunes.....	14
1.2.8.- Diagnostic des maladies auto-immunes.....	15
1.2.8.1.- Mise en évidence de différents types des auto-anticorps.....	15
1.2.8.2.- Détection d'une immunité à médiation cellulaire.....	22
1.2.9.- Traitement des maladies auto-immunes.....	25
Chapitre II: Technique immuno-enzymatique « ELISA ».....	27
2.1.- Antigènes (Ag) et anticorps (Ac).....	27
2.1.1.- Antigènes.....	27

2.1.2.- Anticorps (Ac) ou immunoglobuline (Ig).....	27
2.1.3.- Réaction antigènes-anticorps.....	28
2.2.- Test immuno-enzymatique.....	29
2.2.1.- Test ELISA.....	29
2.2.1.1.- Définition.....	29
2.2.1.2.- Principe général dans les techniques immuno-enzymatiques.....	30
2.2.1.3.- Différent types de test ELISA.....	30
2.2.1.4.- Raisons du succès des tests ELISA et leurs limites.....	34
Partie II : Matériel et méthodes	
Chapitre III: Matériel et méthodes.....	36
3.1.- Présentation de La zone d'étude.....	36
3.1.1.- Lieu d'étude.....	37
3.2.- Echantillonnage.....	37
3.3.- Matériel.....	37
3.3.1.- VIDAS (mini VIDAS).....	37
3.3.1.1.-Cartouche.....	38
3.3.1.2.-Cône.....	38
3.3.1.3.- Etape de réalisation du test.....	38
3.3.2.- TOSOH (AIA 600II).....	39
3.3.2.1.- Cup test.....	39
3.3.2.2.- Etape de réalisation du test.....	40
3.4.- Analyse statistique.....	41
Partie III : Résultats et discussions	
Chapitre IV: Résultats et discussions.....	42
4.1.- Répartition des cas des recherches des AAc selon le sexe.....	42
4.2.- Répartition des cas de recherche des AAc selon la saison.....	42
4.3.- Répartition des cas positifs et négatifs des tests AI de chaque type d'AAc.....	43

4.4.- Répartition des cas positifs des tests AI de chaque type d'AAc selon l'âge...	44
4.5.- Répartition des cas positifs des tests AI de chaque type d'AAc selon le sexe..	46
4.6.- Répartition des cas des tests AI de chaque type d'AAc selon la saison.....	47
Conclusion générale.....	49
Références bibliographiques.....	50
Annexes.....	58

Abréviations

A CCP	Auto-anticorps anti-peptides cycliques citrullinés
A In-G	Auto-anticorps anti-Insuline et GAD
A TG	Auto-anticorps antithyroglobuline
AAc	Auto-anticorps
AAg	Auto-Antigène
AAN	Auto-anticorps Anti-nucléaires
Ac	Anticorps
Ac anti-ADNn	Auto-anticorps anti-DNA natif
AChR	Auto-anticorps anti-récepteur de l'acétylcholine
ACLA	Auto-anticorps anti-cardiolipine
ADN	Acide désoxyribonucléique
Ag	Antigène
AGA	Auto-anticorps anti-gliadine
AI	Auto-Immunité ou Auto-Immuns
AMA	Auto-anticorps anti mitochondries
AML ou SMA	Auto-anticorps anti-muscle lisse ou anti-smooth muscle antibodies
AMS	Auto-anticorps anti-muscle strié
anti-Jo-1	Anti-histidyl-tRNA synthetase
anti-PCNA	Anti-cytoplasme de polynucléaire neutrophile
anti-PM-Scl	Anti-aminoacyl-tRNA synthetase
anti-Sm	Anti-Smith
APL	Auto-anticorps anti- phospholipides
ATPO	Auto-anticorps anti-thyroperoxidase
AtTG	Auto-anticorps anti-transglutaminase tissulaire
BCR	B cell Receptor
CD	Cluster of differentiation
EIA	Enzyme Immuno Assay
ELISA	Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay
EMA	Auto-anticorps anti-endomysium
Fc	Fragment cristallisable
Fc γ	Fragment cristallisable gamma
Fc ϵ	Fragment cristallisable épsilon
GAD	Glutamic Acid Decarboxylase
H ⁺ /K ⁺ ATPase	pompe H ⁺ /K ⁺
IFI	ImmunoFluorescence Indirecte
Ig	Immunoglobuline
IgA	Immunoglobuline A
IgD	Immunoglobuline D
IgE	Immunoglobuline E
IgG	Immunoglobuline G
IgM	Immunoglobuline M
LB	Lymphocyte B
LBm	Lymphocyte B mémoire

LDL-R	Low-Density Lipoprotein Receptor
LED	Lupus Erythémateux Disséminé
LKM	Liver-kidney-Microsomal
LTc	Lymphocytes T cytotoxiques (CD8)
LTh	Lymphocytes T helper (CD4)
LTm	Lymphocytes T mémoire
LTs	Lymphocytes T supresseurs
MAI	Maladies auto-immunes
MBP	Mannose- Binding Protein
NK	Natural Killer
NKR	Natural Killer Receptor
PR	Polyarthrite Rhumatoïde
rads	Radiation absorbed dose
RNA	Acide Ribonucléique
RNP	Ribo-Nucléoprotéiques
SNC	Système Nerveux Central
TCR	T Cell Receptor
TSH-R	Thyroid-Stimulating Hormone Receptor
U1-RNP	Uridine rich ribonucleoprotein
β-2Gp1	Beta(2)-glucoprotein-1

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
1	Les différentes cellules de la ligne myéloïde et lymphoïde	3
2	Quelques exemples de maladies auto-immunes	15
3	Pathologies auto-immunes selon les types des auto-anticorps	24

Liste des figures

N°	Titre	Page
1	ELISA directe	30
2	ELISA indirecte	31
3	ELISA sandwich	32
4	ELISA compétitif	32
5	ELISA ELISPOT	34
6	Situation géographique de Ghardaïa	36
7	Répartition des cas de recherche des AAc selon le sexe de patients	42
8	Répartition des cas de recherche des AAc selon la saison	42
9	Répartition des cas positifs et négatifs des tests auto-immuns de chaque type d'AAc	43
10	Répartition des cas positifs des tests auto-immuns de chaque type d'AAc selon l'âge de patients	44
11	Répartition des cas positifs des tests auto-immuns de chaque type d'AAc selon le sexe de patients	46
12	Répartition des cas positifs des tests auto-immuns de chaque type d'AAc selon la saison	47

Liste des photos

N°	Titre	Page
1	Appareil VIDAS "original"	37
2	Cartouche utilisée dans l'appareil VIDAS "original"	38
3	Appareil TOSOH "original"	39
4	Cup test "original"	40

Liste des annexes

N°	Titre	Page
1	Principaux acteurs humoraux et cellulaires de l'immunité naturelle ou spécifique	58
2	Répartition des cas des recherches des AAC selon le sexe	58
3	Répartition des cas des recherches des AAC selon la saison	58
4	Analyse de la liaison entre deux variables qualitatives	59

Introduction générale

Introduction générale

Le système immunitaire est un système de défense remarquablement adaptatif, qui nous protège des pathogènes aussi variés que les virus, les bactéries, les champignons et les parasites. Il est composé d'une multitude de cellules et de molécules composant un réseau dynamique capable de reconnaître spécifiquement et d'éliminer un grand nombre de microorganismes étrangers (BERGEREAU, 2010).

Tant qu'il fonctionne normalement, le système immunitaire contribue à la protection du corps, mais peut être exposé à des problèmes qui limitent son efficacité. Parmi ces problèmes l'auto-immunité. En effet, au début du XX^{ème} siècle, Paul EHRLICH a réalisé que le système immunitaire pouvait présenter des dysfonctionnements et qu'au lieu de réagir contre les antigènes étrangers il pouvait concentrer son attaque sur des auto-antigènes. Il s'en est ainsi déduit que l'auto-immunité résultait donc d'une réponse immunitaire délétère contre les antigènes propres d'un individu (BERGEREAU, 2010). On a estimé qu'au moins 1 à 2% de personnes souffrent de maladies auto-immunes dans les pays développés, alors que la prévalence paraît s'élever. Toutefois, dans de nombreux cas, des maladies associées à des réponses immunitaires incontrôlées sont qualifiées d'auto-immunes sans que des réponses contre des antigènes du soi aient été clairement démontrées (ABBAS et LICHTMAN, 2009).

La découverte du système immunitaire représente une étape majeure de l'histoire des Sciences de la Vie. Ses répercussions ont été extrêmement importantes et ont permis des applications prophylactiques, diagnostiques et thérapeutiques. L'interaction antigène-anticorps, support de la spécificité immunologique, est aujourd'hui utilisée à la fois comme modèle d'étude des interactions moléculaires et comme outil de détection et de quantification, notamment dans le cadre des dosages immunologique (NEUBURGER, 2006).

Afin de réaliser un diagnostic des maladies auto-immunes, nous utilisons la technique immuno-enzymatique ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay). Cette technique nous permet de quantifier le taux des immunoglobulines (LAHOUAL, 2010).

L'objectif de notre travail est d'étudier l'importance de la technique ELISA lors de diagnostic des maladies auto-immunes au niveau de la wilaya de Ghardaïa pendant l'année 2011.

Notre travail sera réparti en quatre chapitres:

- Le premier et le deuxième chapitre relatif à l'étude bibliographique des maladies auto-immunes et de technique immuno-enzymatique « ELISA ».
- Le troisième chapitre réservé à l'étude expérimentale, présente les matériels et les méthodes utilisées pour la réalisation de ce travail.
- Le quatrième chapitre consacré à la présentation et la discussion des résultats obtenus.

Et en dernier lieu, une conclusion et des perspectives qui achèvent la présente étude.

*Partie I : Synthèse
bibliographique*

*Chapitre I: Maladies auto-
immunes*

Chapitre I : Maladies auto-immunes

1.1.- Aperçu général sur le système immunitaire et ses fonctions

L'immunité est définie comme la résistance aux maladies, et plus spécifiquement aux maladies infectieuses. L'ensemble des cellules, des tissus et des molécules qui concourent à opposer une résistance aux infections est appelé *système immunitaire*, et la réaction coordonnée de ces cellules et molécules contre les germes pathogènes, porte le nom de *réponse immunitaire*. La fonction physiologique du système immunitaire est de prévenir les infections et d'éradiquer les infections déclarées (ABBAS et LICHTMAN, 2009).

1.1.1.- Composants du système immunitaire

Le système immunitaire possède une organisation complexe et qui lui est bien particulière. L'ensemble des structures impliquées dans les processus de défense associe des organes, des tissus, des cellules, des molécules et un réseau de vaisseaux particuliers, les lymphatiques qui complètent la vascularisation sanguine (GUALDE, 1989).

1.1.1.1- Cellules

Les cellules de système immunitaire sont subdivisées en deux grands groupes selon leurs origines: myéloïdes et lymphoïdes.

La ligne myéloïde, issue de CMP (Common Myeloid Progenitor, progéniteur myéloïde commun), fournit la majorité des cellules du système immunitaire inné. Elle comprend elle-même trois grandes lignées leucocytaires : la lignée monocyttaire, la lignée granulocytaire et les mastocytes (ESPINOSA et CHILLET, 2010).

Les cellules de la lignée lymphoïde dérivent du même précurseur : les CLP (Common Lymphoïde Progenitor, progéniteur lymphoïde commun) (ESPINOSA et CHILLET, 2010). Elles sont les cellules clé qui contrôlent la réponse immune. Les lymphocytes d'un individu reconnaissent sélectivement tous les matériaux étrangers qui diffèrent des propres tissus de son corps (HENRY et HOMPSON, 2004). Les deux populations majeures de lymphocytes, les cellules B et les cellules T, sont des petits lymphocytes responsables à la reconnaissance de l'antigène (Ag) ou de ses fragments. Une troisième population, les grandes lymphocytes à granules (LGL) reconnaissent les modifications des cellules hôtes lorsque celle-ci sont infectées (MALE, 2005) (tableau 1).

Tableau 1: Les différentes cellules de la ligne myéloïde et lymphoïde.

	La cellule	Les caractéristiques	Les fonctions	Références
Ligne myéloïde	Monocyte	<ul style="list-style-type: none"> - diamètre: 15 à 30µm - distribution: sanguine - noyau en fer à cheval - cellule très mobile avec des contours irréguliers de la membrane plasmique - le cytoplasme riche en lysosomes - représente 3 à 10% des globules blancs - demi-vie dans le sang: dizaine d'heures - différencie en deux types de cellules dans les tissus (macrophages, cellules dendritique) 	<ul style="list-style-type: none"> - phagocytaire - présentation de l'Ag 	ESPINOSA et CHILLET, 2010; VAUBOURDOLLE, 2007
	Macrophage	<ul style="list-style-type: none"> - diamètre: de 10 à 50 ou > 100 µm - distribution: tissulaire - noyau réniforme - contours très irréguliers de la membrane plasmique et le cytoplasme renferme une machinerie de biosynthèse des protéines (Réticulum Endoplasmique Granuleux « REG » et Appareil de Golgi « AG » très développés) - possède nombreux récepteurs PRR (Pattern Recognition Receptor) - possède des récepteurs pour la fraction Fc des immunoglobulines (RFc) et le complément (CR) - demi-vie: 20 à 50 jours jusqu'au 5 mois 	<ul style="list-style-type: none"> - phagocytose - sécrétion des cytokines - organisation de la réponse inflammatoire - présentation de l'Ag - homéostasie tissulaire 	ESPINOSA et CHILLET, 2010; JOHNSON <i>et al.</i> , 2011; LACOMBE, 2007; LETONTURIER, 2007

La suite

Cellule dendritique	<ul style="list-style-type: none"> - diamètre: 15 à 30 μm - longs prolongements membranaires - demi-vie: 1 à 6 semaines 	<ul style="list-style-type: none"> - présentation de l'antigène 	DeFRANCO <i>et al.</i> , 2009; ESPINOSA et CHILLET, 2010; PONCELET et SIFER, 2011
Polynucléaire neutrophile	<ul style="list-style-type: none"> - diamètre: 10 à 15 μm - distribution: sanguine - noyau polylobé - le cytoplasme contient nombreux granules: azurophile (ou I), spécifique (ou II) et de stockage (III) - représente 50 à 70% des globules blancs - demi-vie: moins de 24 heures 	<ul style="list-style-type: none"> - phagocytose 	ASPAR <i>et al.</i> , 2001; ESPINOSA et CHILLET, 2010; NGUYEN et BOUROUINA, 2008
Polynucléaire éosinophile	<ul style="list-style-type: none"> - diamètre: 10 à 15 μm - distribution: sanguine puis tissulaire - noyau polylobé - le cytoplasme contient nombreux granules - représente 1 à 3% des globules blancs - demi-vie: tissulaire de 8 à 12 jours 	<ul style="list-style-type: none"> - réponse inflammatoire allergique - immunité antiparasitaire 	BROOKER, 2000; ESPINOSA et CHILLET, 2010; KIERSZENBAUM, 2006

La suite

	Polynucléaire basophile	<ul style="list-style-type: none"> - diamètre: 10 à 12 μm - distribution: sanguine - noyau volumineux rond ou ovalaire avec quelques fissures - cytoplasme contient nombreux granules riche en aryl-sulfatase, β glucuronidase et histamine - possède des récepteurs pour Fcϵ et CR pour les fractions C3a et C5a - demi-vie: 5 à 7 heures 	<ul style="list-style-type: none"> - réponse inflammatoire allergique - immunité anti-infectieuse 	<p>ESPINOSA et CHILLET, 2010; KIERSZENBAUM, 2006; LYDYARD <i>et al.</i>, 2002; REVILLARD, 2001;</p>
	Mastocyte	<ul style="list-style-type: none"> - diamètre: 10 20 μm - distribution: tissulaire - noyau important, très nombreux granules cytoplasmiques (~ 1000) - possède des récepteurs pour Fcϵ, Fcγ et pour les fractions C3a et C5a - demi-vie: 1 à 6 mois 	<ul style="list-style-type: none"> - mise en place de la réaction inflammatoire - réaction allergique - défense antimicrobienne - maintien des tissus muqueux et épithéliaux 	<p>ESPINOSA et CHILLET, 2010; JANEWAY et TRAVES, 2003; LYDYARD <i>et al.</i>, 2002; MOLINA, 1995; NICOLAS <i>et al.</i>, 2001</p>
Ligne lymphoïde	Lymphocyte T	<ul style="list-style-type: none"> - diamètre: 10 μm - distribution: organes lymphoïdes - noyau très volumineux avec fin liseré cytoplasmique - marqueurs: TCR, CD3, CD4 (LTCD4 ou LTh) ou CD8 (LTCD8 ou LTc) - demi-vie: quelques mois pour les LT naïfs et plusieurs mois pour les LTm 	<ul style="list-style-type: none"> - LTh: contrôle et mise en route des réponses immunitaires adaptatives - LTc: élimine des cellules infectées ou cancéreuses 	<p>CHAPEL <i>et al.</i>, 2004; ESPINOSA et CHILLET, 2010; GUALDE, 1989; LYDYARD <i>et al.</i>, 2002; MALE, 2005; NGUYEN et BOUROUINA, 2008; SCHAECHTER <i>et al.</i>, 1999</p>

La suite

	Lymphocyte B	<ul style="list-style-type: none"> - diamètre: 10 μm - distribution: organes lymphoïdes - noyau très volumineux avec fin liseré cytoplasmique - marqueurs: BCR, CD19, CD21, CR, CD79 a et b - demi-vie: quelques mois pour les LB naïfs et plusieurs mois pour les LBm 	- réponse immunitaire adaptative humorale	GUENARD <i>et al.</i> , 2001; GUALDE, 1989; ESPINOSA et CHILLET, 2010; LACOMBE, 2007; LODISH <i>et al.</i> , 1997; LYDYARD <i>et al.</i> , 2002; WHEATER <i>et al.</i> , 2001;
	Natural Killer (NK)	<ul style="list-style-type: none"> - diamètre: 12 à 14 μm - distribution: sanguine - cytoplasme contient nombreux granules - marqueurs: NKR, CD16, CD56 - demi-vie: 7 à 10 jours 	- élimination des cellules infectées par un virus, une bactérie ou cancéreuses	GUALDE, 1989; ESPINOSA et CHILLET, 2010; JOHNSON <i>et al.</i> , 2011; LYDYARD <i>et al.</i> , 2002;

1.1.1.2- Organes et tissus lymphoïdes

Les organes lymphoïdes sont subdivisés en deux catégories:

1.1.1.2.1-. Organes lymphoïdes primaires ou centraux

Les organes lymphoïdes primaires assurent la production permanente de cellules du système immunitaire. La moelle osseuse et le thymus sont les deux organes lymphoïdes chez l'Homme adulte (ESPINOSA et CHILLET, 2010).

La moelle osseuse est le tissu lymphoïde primaire (PRESCOTT *et al.*, 2003). Elle est formée d'îlots cellulaires (moelle rouge) séparés par du tissu adipeux (moelle jaune) (SHOLTIS BRUNNER et SMITH SUDDARTH, 2006). Les éléments du sang vont se former dans la moelle osseuse rouge hématopoïétique située dans la diaphyse des os long (chez le fœtus et l'enfant), les épiphyses et les os plats. La moelle osseuse est faite d'un stroma où se trouvent des cellules fixes (réticulaire, adipocytes, macrophages) et des cellules libres (lignée hématopoïétique). La moelle osseuse possède des cellules souches totipotentes ; c'est-à-dire que, sous l'influence de certains facteurs, la cellule souche pourra évoluer en une cellule différenciée qui s'engage définitivement dans une lignée déterminée aboutissant à une cellule sanguine (PRUGNOLLE et THOREAU, 1996). Au total, la moelle osseuse, chez l'homme a en fait trois fonctions dans l'immunité (HOMBERG, 1999) :

- le maintien d'un contingent de cellules souches avec différenciation vers la série lymphocytaire et le premier stade de la série T et la série B.
- la maturation et la différenciation complètes des pro-lymphocytes B en LB matures aptes à coloniser les organes lymphoïdes secondaires.
- l'hébergement (homing) des lymphocytes B activés par l'Ag provenant des organes secondaires qui se transforment en plasmocytes synthétiseurs d'anticorps.

Le thymus est un organe lymphoïde primaire reposant sur le cœur, colonisé par des cellules souches provenant de la moelle osseuse, qui se différencient en lymphocytes T. Il est bilobé et organisé en lobules séparés par des travées de tissu conjonctif (MALE, 2005), chacun représentant une unité structurale, avec un cortex épais, constitué de cellules lymphoïdes tassés et une médullaire, d'aspect plus clair liée à une moins grande richesse en lymphocytes. Ces deux zones sont parcourues par une trame de cellules épithéliales, rare dans le cortex, plus abondantes dans la médullaire, où elles se regroupent en petits îlots (corpuscules de Hassal). Les lymphocytes acquièrent leur immunocompétence au contact de la trame épithéliale du cortex, grâce à la sécrétion par ces cellules du facteur thymique sérique ou thymuline. Dans la corticale thymique, les cellules

lymphoïdes ont une très grande activité mitotique en dehors de toute stimulation antigénique. Beaucoup meurent sur place. Les autres migrent vers la médullaire, où elles acquièrent les marqueurs de différenciation et une immunocompétence. Elles quitteront alors le thymus pour peupler les organes lymphoïdes périphériques « thymodépendants » et le sang. Selon les Ag qu'ils expriment, on distingue des thymocytes corticaux, des thymocytes médullaires ou « communs » et des thymocytes matures (SEBAHOUM, 2005). Pendant l'enfance, le thymus est le plus actif, atteignant un poids de 30 à 40 g à la puberté, à partir de laquelle il subit une involution progressive, de sorte que chez l'adulte et le sujet âgé il peut être difficile à différencier macroscopiquement du tissu adipeux (HEATH *et al.*, 2008).

Les principales fonctions de thymus sont (WHEATER *et al.*, 2001):

- Le développement de l'immunocompétence des lymphocytes T à partir des précurseurs cellulaires T dérivés de la moelle osseuse, pour aboutir aux cellules LTh et LTc matures.
- La prolifération de clones de cellules T natives matures pour alimenter le pool de lymphocytes circulants et les tissus périphériques.
- Le développement de la tolérance immunologique aux « antigènes de soi ».
- La sécrétion d'hormones et d'autres facteurs solubles qui régulent la maturation, la prolifération et la fonction des cellules T à l'intérieur du thymus et dans les tissus périphériques. Il existe au moins quatre polypeptides à caractère hormonal, appelés thymuline, thymopoïétine, $\alpha 1$ et $\beta 4$ thymosine.

1.1.1.2.2.- Organes lymphoïdes secondaires

Les organes lymphoïdes secondaires constituent des sites où se déroule la réponse immunitaire adaptative. Les lymphocytes matures issus des organes lymphoïdes primaires y recirculent en permanence dans l'attente d'une éventuelle rencontre avec l'Ag (ESPINOSA et CHILLET, 2010).

Les ganglions lymphatiques sont de petits organes en forme de haricot situés sur le trajet des vaisseaux lymphatiques de telle sorte que la lymphe se drainant dans le courant sanguin passe à travers un ou plusieurs de ces ganglions (WHEATER *et al.*, 2001). Ils mesurent de quelques millimètres à 2.5 cm de diamètre (BROOKER, 2000). Les ganglions lymphatiques ont pour fonction l'élimination d'agents pathogènes (rôle des macrophages phagocytaires) et le développement des réponses immunitaires (SEBAHOUM, 2005).

Ils sont constitués de trois zones essentielles: le cortex (riche en follicules des LB), le paracortex (zone T) et le médulla (BOUTAMMINA, 2012).

La rate est située dans le péritoine, sous le diaphragme et derrière l'estomac. Elle est constituée de deux types principaux de tissus, appelés la pulpe rouge et la pulpe blanche ou PASL (manchon lymphoïde périartériel) (MALE, 2005). La pulpe rouge est un réseau de cordons spléniques et de sinus veineux bordés de macrophages (MALE, 2005) joue le rôle d'un filtre du sang qui élimine de la circulation les globules rouges vieillis et altérés ainsi que les micro-organismes. C'est également un lieu de stockage de globules rouges (KIERSZENBAUM, 2006). La pulpe blanche ou la zone à fonction immunitaire (BROOKER, 2000). Elle est constituée de manchons lymphoïdes périartériolaires entourés d'une zone marginale riche en macrophages et en LBm. Autour des artéριοles on trouve une zone centrale riche en LT et une zone plus périphérique riche en LB organisée sous forme de follicules primaires et secondaires dont la structure est comparable à celle des ganglions. Les lymphocytes formés au sein de la pulpe blanche migrent vers la pulpe rouge et la circulation sanguine (REVILLARD, 2001).

Tissu lymphoïde associé aux muqueuses (Mucosa-Associated Lymphoid Tissue, MALT) (STEVENS et LOWE, 1997) est formé d'une part d'un tissu lymphoïde diffus dans le tissu conjonctif sous-épithélial (ex : lamina propria de l'intestin) et d'autre part de formations lymphoïdes organisées qui sont des sites d'induction de la réponse immunitaire vis-à-vis d'Ag pénétrant par voie muqueuse à travers l'épithélium (REVILLARD, 2001). L'organisme contient, une importante quantité de tissus lymphoïdes non encapsulé situé dans les parois du tube digestif et des appareils respiratoires et uro-génital (STEVENS et LOWE, 1997).

1.1.2.- Réponse immunitaire

L'organisme résiste aux pathogènes de deux manières : par la réponse immunitaire innée (ou naturelle) et par la réponse immunitaire adaptative (ou acquise). Les mécanismes de l'immunité innée sont les premiers à être mis en jeu (PARHAM, 2003).

L'immunité innée ou naturelle est le plus simple mécanisme de protection, ne requiert pas d'exposition préalable à un agent pathogène et se déclenche rapidement (KIERSZENBAUM, 2006). Elle est assurée en premier lieu par les barrières anatomiques: les barrières physiques (la peau, la muqueuse et les cils) et chimiques (les différentes sécrétions effectuées au niveau des barrières physiques) (BOUREE *et al.*, 2002). Ces barrières agissent de façon non spécifique pour détruire les bactéries et les champignons qui envahissent l'organisme (BRUNNER *et al.*, 1994). Cette première ligne est suivie par deuxième ligne, qui réagit de façon non spécifique et de manière égale

contre les corps étrangers et n'a pas de mémoire immunologique, renferme des cellules phagocytaires telles que les polynucléaires neutrophiles, éosinophiles et les macrophages, d'autres interviennent dans la réaction inflammatoire (les mastocytes) et dans la destruction des cellules infectées ou cancéreuses (NK) avec des molécules (le complément, les protéines de la phase aiguë et les lectines) qui réagissent avec les polysaccharides des microorganismes (MARTIN *et al.*, 2006; HARELY *et al.*, 2010; HEATH *et al.*, 2008).

L'immunité adaptative ou acquise est la conséquence d'une exposition initiale à un agent pathogène (KIERSZENBAUM, 2006), de façon ciblée et repose sur des cellules immunitaires particulières, capables de « mémoriser » l'agent infectieux en cause (BOUREE *et al.*, 2002) et se caractérise par une augmentation de la réponse à chaque rencontre avec cet agent (BAUDRY *et BRÊZELLE*., 2006). Ces cellules, retrouvées dans les tissus lymphoïdes (ganglions lymphatiques et rate) et le sang, sont les lymphocytes B (réponse immunitaire à médiation humorale) et les lymphocytes T (réponse immunitaire à médiation cellulaire) (BOUREE *et al.*, 2002; CHAPEL *et al.*, 2004 ; STEVENS *et al.*, 2004).

1.2.- Auto-immunité et maladies auto-immunes

Longtemps considérée comme une éventualité rare, la survenue de maladies auto-immunes (MAI) constitue aujourd'hui le troisième grand processus pathologique après les maladies cardiovasculaires et les cancers. Chaque année, des maladies plus ou moins bien comprises sont expliquées par la découverte d'une anomalie auto-immune (VAUBOURDOLLE, 2007).

1.2.1.- Tolérance

La tolérance est l'acquisition d'un état de non-réponse vis-à-vis d'une molécule reconnue par le système immunitaire. Les animaux sont normalement tolérants à leurs propres tissus sans quoi ils développeraient des maladies auto-immunes (MALE, 2005). La tolérance est obtenue par plusieurs moyens s'adressant essentiellement aux lymphocytes T (SEIGNALET, 2004):

- **Délétion clonale.** Les lymphocytes T effectuent au cours de la vie fœtale un stage dans le thymus. Ceux spécifiques des antigènes extérieurs sont conservés et ceux spécifiques des auto-antigènes (AAg) sont supprimés.
- **Anergie clonale.** Une minorité des lymphocytes T auto-réactifs échappent à la délétion clonale. Ils reçoivent alors des signaux qui les rendent non réactifs aux AAg. Ces lymphocytes T deviennent endormis ou quiescents.

- **Suppression.** Certains lymphocytes T dits suppresseurs (LTs) sont capables en cas de besoin, d'inhiber la réponse d'autres lymphocytes T aux AAg. Quant aux lymphocytes B, leur tolérance est obtenue essentiellement par anergie clonale et action des LTs.

La tolérance pour les auto-antigènes n'est pas absolue. Elle est complète au niveau des lymphocytes T, mais non des lymphocytes B. 10 à 30 % des LB fabriquent des auto-anticorps. La plupart de ces AAc sont des IgM polyspécifiques, n'ayant qu'une faible affinité pour les AAg. Ils sont donc inoffensifs (SEIGNALET, 2004).

1.2.2.- Auto-immunité

L'auto-immunité (AI) est une réponse immunitaire dirigée contre un antigène ou des antigènes du soi (CHAPEL *et al.*, 2004) et constitue une cause importante de pathologies (ABBAS et LICHTMAN, 2009). Pour bien comprendre comment une réaction auto-immune peut émerger, il est nécessaire de décrire les mécanismes par lesquels la tolérance au soi est normalement maintenue (MALE, 2005) :

1. Séquestration des AAg;
2. Délétion des lymphocytes *auto-réactifs* dans le thymus ou la moelle osseuse ;
3. Incapacité à apprêter ou présenter des molécules du soi particulières;
4. Induction d'une anergie des cellules T *auto-réactives*, conséquence d'une absence de signaux de costimulation;
5. Présence de cytokines ou d'hormones suppressives.

1.2.3.- Définition des maladies auto-immunes

Les maladies auto-immunes (MAI) sont la conséquence pathologique du phénomène d'auto-immunité (BREZIN, 2011). Ils regroupent un nombre important de maladies dont le point commun est un défaut de tolérance du système immunitaire vis-à-vis des antigènes de soi. La prévalence de chacune de ces maladies est faible, cependant, prises ensemble, elles touchent près de 5 % de la population (AUTIER *et al.*, 2004). Cliniquement, se sont des maladies très polymorphes, pouvant atteindre de très nombreux organes : thyroïde, pancréas, foie, intestin, ou des tissus de soutien : le muscle et la peau. Elles sont donc très diversifiées sur les plans clinique et biologique, mais sont toutes des maladies inflammatoires, avec auto-anticorps (MUSSET, 2009).

Quatre critères majeurs permettent d'affirmer l'origine auto-immune d'une maladie (BREZIN, 2011):

1. La mise en évidence d'une réaction auto-immune (humorale ou cellulaire) dirigée contre l'organe responsable des manifestations cliniques ;
2. La démonstration du pouvoir pathogène des effecteurs auto-immuns in vitro par des tests fonctionnels ou in vivo par des expériences de transfert ;
3. L'induction d'une maladie expérimentale par immunisation avec l'AAg cible ;
4. La prévention ou la suppression de la maladie par l'administration d'un traitement immunosuppresseur.

Peu de maladies auto-immunes réunissent l'ensemble de ces critères et, dans de nombreux cas, seuls deux ou trois de ces critères sont réunis.

1.2.4.- Facteurs déclenchant

De façon simplifiée, une maladie auto-immune est causée par la rupture des processus de tolérance protégeant l'hôte contre l'action des lymphocytes auto-réactifs. Il est évident que la tolérance agit en prévenant les maladies auto-immunes. Des preuves convaincantes que cela est vrai ont été fournies par des mutations survenant naturellement et bloquant la tolérance, suivies d'une auto-immunité (KINDAT *et al.*, 2008).

Plusieurs causes sont en jeu :

➤ *Facteurs génétiques*

Les maladies auto-immunes présentent des caractères héréditaires avec une propension à apparaître dans certaines familles suggérant une susceptibilité génétique. La génétique de ces maladies est complexe et implique plusieurs gènes, encore mal connus. Le Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH) est le locus le plus souvent lié aux maladies auto-immunes, avec de nombreux allèles fréquemment retrouvés lors de ces maladies. En effet, certains allèles codent des protéines du CMH possédant des poches à peptides très favorables à la fixation de peptides issus d'auto-antigènes (ESPINOSA et CHILLET, 2010).

➤ *Facteurs de terrain*

Les cellules T auto-réactives sont indispensables au développement des phénomènes d'auto-immunité, qu'il s'agisse de l'AI spécifique d'organes ou non, conduisant à la production d'AAc et au développement d'une pathologie tissulaire auto-immune. Un mauvais équilibre entre l'expression de LTh et LTs pourrait participer à la pathogénie de ces phénomènes (HENNEN, 1996) ou un dysfonctionnement de l'organe cible (ORSINI *et* PELLET, 2005).

➤ *Facteurs environnementaux*

Les facteurs environnementaux jouent un rôle indirect qui ce sont les virus, certaines bactéries, des poussières ou encore des médicaments (De KERVASDOUE *et* BELAÏSCH, 2005), et certains

comportements alimentaires (ESPINOSA et CHILLET, 2010). Dans la grande majorité des cas, les microbes ne provoquent pas de maladies auto-immunes (De KERVASDOUE *et* BELAÏSCH, 2005).

➤ **Facteurs hormonaux**

Ces facteurs jouent un rôle indéniable sur le système immunitaire (De KERVASDOUE *et* BELAÏSCH, 2005) comme les hormones sexuelles féminines (ORSINI *et* PELLET, 2005).

1.2.5.- Personnes touchées par les maladies auto-immunes

La morbidité causée par des maladies auto-immunes en occident est considérable (CHAPEL *et al.*, 2004). Avec l'âge, le risque que les différents facteurs causaux les maladies auto-immunes s'expriment augmente ; ce qui explique une plus grande fréquence de ces maladies chez les personnes d'âge mûr (ORSINI *et* PELLET, 2005). On trouve parmi ces maladies la sclérose en plaque, l'arthrite rhumatoïde et le diabète insulino-dépendant. Les maladies auto-immunes sont rares dans l'enfance. Elles surviennent en majorité pendant la puberté et l'âge de la retraite, à l'exception de la forme de diabète qui survient dans l'enfance (CHAPEL *et al.*, 2004).

Le risque d'être atteint d'une maladie auto-immune est très différent selon le sexe. Presque toutes ces affections sont plus fréquentes chez la femme, jusqu'à huit fois pour certaines d'entre elles (CHAPEL *et al.*, 2004).

La prévalence de l'AI tend à être plus élevée dans les pays du nord ; il est probable qu'elle soit également plus élevée dans les pays industrialisés occidentaux. Il semble qu'elle augmente en même temps que ce modèle d'organisation social et économique se développe. On ignore si cette variation en fonction de facteurs socio-économiques et géographiques correspond à une exposition différente à des agents pathogènes, à des variations dans l'alimentation ou à autres facteurs (CHAPEL *et al.*, 2004).

1.2.6.- Classification des maladies auto-immunes

Les MAI sont classés en deux grandes catégories (VAUBOURDOLLE, 2007) :

1.2.6.1.- Maladies auto-immunes spécifiques d'organes

Les MAI spécifiques d'organes affectent en général un seul organe. La réponse auto-immune étant dirigée contre de multiples antigènes de cet organe. La plupart des affections auto-immunes spécifiques d'organes touchent l'une ou l'autre glande endocrine. Les cibles antigéniques peuvent être des molécules exprimées à la surface de cellules vivantes (en particulier des récepteurs hormonaux) ou des molécules intracellulaires, en particulier des enzymes. Les raisons de cet aspect restreint à certains organes et cibles antigéniques restent inconnues (CHAPEL *et al.*, 2004).

La thyroïde d'Hashimoto et la maladie de Graves, qui touchent de manière prédominante la glande thyroïde, et le diabète insulino-dépendant de type I, qui affecte les îlots pancréatiques, sont des exemples de maladies auto-immunes spécifiques d'organe (JANEWAY et TRAVES, 2003).

La pathogénie de ces maladies s'explique essentiellement par des réactions d'hypersensibilité de types II (cytotoxique) et IV (retardé) (PONVERT *et al.*, 1991).

1.2.6.2.- Maladies auto-immunes systémiques (non organo-spécifiques)

Les MAI non spécifiques d'organe ou systémiques, caractérisées par des manifestations pathologiques plus étendues, telles que (BREZIN, 2011) le lupus érythémateux disséminé (LED) et le syndrome primaire de SJÖGREN (JANEWAY et TRAVES, 2003). Dans ces cas, la rupture de la tolérance concerne des AAg ubiquitaires, exprimés par un grand nombre de tissus. Ces maladies n'en demeurent pas moins spécifiques d'antigènes et peuvent, paradoxalement, s'exprimer préférentiellement au niveau d'un ou plusieurs organes (BREZIN, 2011). On trouve souvent associées à ce type de pathologies des réactions d'hypersensibilité de type III, dépendante des complexes immuns (MALE, 2005).

1.2.7.- Mécanismes des lésions tissulaires auto-immunes

Les lésions tissulaires auto-immunes sont causées par des anticorps (hypersensibilité de type I et III), par des macrophages activés par des LT CD4 ou par des LTc (hypersensibilité de type IV). L'un ou l'autre mécanisme prédomine dans la plupart des maladies auto-immunes, mais les lésions causées par des anticorps (Ac) et par l'immunité cellulaire se superposent souvent (CHAPEL *et al.*, 2004).

En plus des lésions tissulaires secondaires aux mécanismes habituels de l'hypersensibilité, les auto-anticorps (AAc) peuvent également être pathogènes en se liant à des sites fonctionnels d'antigènes du soi, comme des récepteurs hormonaux, des récepteurs de neurotransmetteurs et des protéines plasmiques. Ces AAc limitent ou bloquent l'action du ligand endogène de la protéine du soi, et ainsi causent des anomalies de fonctions sans nécessairement entraîner une inflammation ou des lésions tissulaires (CHAPEL *et al.*, 2004).

Tableau 2 : Quelques exemples de maladies auto-immunes (ESPINOSA et CHILLET, 2010).

	Maladie	Organe cible	Auto-antigène	Mécanisme
MAI spécifiques d'organes	Maladie de Basedow(Graves)	Thyroïde	TSH-R	Auto-Ac stimulants
	Thyroïdite de Hashimoto	Thyroïde	Thyroglobuline	LTh1, Auto-Ac
	Myasthénie	Muscles	AChR	Auto-AC bloquants
	Anémie pernicieuse ou de Biermer	Estomac	Facteur intrinsèque	Auto-Ac
	Gastrite auto-immune	Estomac	H ⁺ /K ⁺ ATPase	LTh1, Auto-Ac
	Hypercholestérolémie	-	LDL-R	Auto-Ac
	Diabète insulino-dépendant	Ilot β de pancréas	Insuline, GAD	LTc, LTh1
	Sclérose en plaque	SNC	MBP	LT
	Maladie d'Addison	Surrénales	-	Auto-AC
	Anémie hémolytique auto-immune	Globules rouges	Antigène rhésus	Auto-AC
	MAI non spécifiques d'organes	Lupus érythémateux disséminé	Peau, reins, articulations, poumons, SNC	Antigènes nucléaires : ADN RNP, histones, etc.
Polyarthrite rhumatoïde		Articulations, poumons, Coeur	IgG, filagrine, fibrine	LT, Auto-Ac
Polymyosite		Muscles, poumons, Coeur, articulations	Antigènes nucléaires synthétases	LT, Auto-AC

1.2.8.- Diagnostic des maladies auto-immunes

Le diagnostic des maladies auto-immunes repose sur la mise en évidence des auto-anticorps et/ou des lymphocytes T auto-réactifs (PONVERT *et al.*, 1991).

1.2.8.1.- Mise en évidence de différents types des auto-anticorps

La détection et le titrage des AAc constituent une étape essentielle du diagnostic et du suivi des maladies auto-immunes et éventuellement du choix de leur traitement et de son efficacité (EYQUEM *et al.*, 2000). Plus d'une cinquantaine d'AAc d'intérêt diagnostique et parfois pronostique peuvent être recherchés (HOMBERG, 1999).

Presque toutes les techniques immunologiques sont utilisées mais choisies en raison de leur bonne valeur clinique et de leur prix (HOMBERG, 1999).

1.2.8.1.1- Auto-anticorps Anti-nucléaires (AAN) «Facteurs Anti-Nucléaires FAN»

Les anticorps (ou facteurs) antinucléaires sont des AAc non spécifiques d'organes dirigés contre les constituants du noyau cellulaire, mais aussi contre certaines structures nucléoprotéiques présentes dans le cytoplasme. On sépare les Ac anti-antigènes nucléaires solubles (Sm, RNP, SSA, SSB...) des Ac anti-antigènes insolubles (essentiellement DNA et RNA mais aussi histones et chromatine) (COHEN, 2002). Leur détection globale est réalisée en général par un test d'immunofluorescence indirecte. La présence d'AAN ne traduit pas toujours une maladie auto-immune. Un taux bas d'AAN peut n'avoir aucune signification pathologique chez un adulte, surtout s'il y a plus de 70 ans, cependant peut traduire dans certains cas une maladie débutante et, chez l'enfant, il est rarement dépourvu de signification pathologique (WEILL, 2003).

➤ Auto-anticorps anti-DNA natif

Les anticorps anti-ADN natif (Ac anti-ADNn) sont retrouvés chez les patients atteints d'un LED. C'est un bon élément de diagnostic et de suivi de l'évolution de la maladie (KUBAB *et al.*, 2006). Leur dosage est indispensable en cas de positivité des ANN (WEILL *et* BATTEUX., 2003). La découverte d'Ac anti-ADNn ne s'observe qu'en cas de lupus. En revanche, les Ac anti-ADN dénaturés sont moins spécifiques, se retrouvant dans plusieurs maladies auto-immunes dont la polyarthrite rhumatoïde, la sclérodermie mais aussi les hépatites (LABESCAT, 2008).

Les Ac anti-ADNn doivent être détectés par deux techniques reposant sur des principes méthodologiques différents. Les trois méthodes les plus couramment utilisées sont l'immunofluorescence indirecte (IFI) sur *Crithidia luciliae*, la radio-immunologie (test de Farr) et les dosages immuno-enzymatiques (ELISA) (WEILL *et* BATTEUX., 2003). Seuls les Ac anti-ADNn de forte affinité, c'est-à-dire IgG, sont détectés sur *Crithidia luciliae* et le test de Farr. Les tests ELISA, en revanche, détectent aussi les IgM de faible affinité. Il est donc indispensable, lorsque les anticorps anti-ADNn sont recherchés par ELISA, de doser séparément les IgM et les IgG qui, seules, permettent de poser le diagnostic de LES (Lupus Erythémateux Systémique) (WEILL *et* BATTEUX., 2003).

➤ Auto-Ac spécifiques d'Ag nucléaires solubles

Les Ac dirigés contre les Ag nucléaires solubles (solubles dans un tampon d'extraction salin) sont historiquement dénommés Ac anti-ECT pour *Extrait de Cellules Thymiques* ou anti-ENA pour *Extractable Nuclear Antigens* (COHEN, 2002). Les principaux systèmes antigéniques sont anti-Sm, anti-U1-RNP, anti-SSA, anti-SSB, anti-Jo-1, anti-PM-Scl, anti-Ku et anti-PCNA (COHEN, 2002). Ces Ac reconnaissent des épitopes peptidiques constitutifs de molécules ribonucléoprotéiques. Ils sont couramment recherchés par immunoprécipitation en gélose par la technique d'Ouchterlony ou par

contre immuno-électrophorèse(électrosynérèse) en utilisant un extrait de cellules thymiques de lapin(ECT) comme substrat. La détection par immuno-empreinte (Western blot) procure des résultats parfois difficiles à interpréter et n'est donc pas utilisée pour le diagnostic médical. Des techniques immuno-enzymatiques sont en cours de développement (WEILL *et* BATTEUX., 2003).

➤ **Auto-Ac anti-ribosomes**

Les Ac anti-ribosomes, appelés Ac anti-protéines ribosomales P ou anti-P, sont souvent associés à d'autres anticorps anti-nucléaires (AAN) et sont considérés comme des marqueurs lupus (BARTHET *et al.*, 2007). La spécificité des Ac anti-ribosomes peut être étudiée par Western blot avec des ribosomes purifiés. Les autres méthodes de confirmation sont l'ELISA et dot-blot (BARTHET *et al.*, 2007).

1.2.8.1.2- Auto-Ac anti-phospholipides

On appelle Ac anti-phospholipides (APL), les Ac dirigés contre les phospholipides ou contre les protéines associées aux phospholipides (AUTIER *et al.*, 2004). Ces Ac (anti-coagulant circulant de type lupique et/ou Ac anti-cardiolipine de classe IgM ou IgG) (EMMERICH *et al.*, 2004) peuvent être rencontrés dans de multiples situations. Uniquement chez certains patients et pour certains types d'Ac, ils perturbent l'hémostase et provoquent des thromboses vasculaires ou des avortements spontanés. La présence des Ac anti-phospholipides et de ces manifestations cliniques définit le syndrome des anti-phospholipides (SAPL) (AUTIER *et al.*, 2004).

➤ **Auto-Ac dirigés contre les phospholipides**

Les Ac anti-cardiolipine (ACLA) de classe IgG ou IgM sont présents dans le sérum de sujets présentant un syndrome primaire ou secondaire des anti-phospholipides (FERENCIK *et al.*, 2005). Les tests récents utilisent la méthode ELISA et permettent de faire la différence entre IgG et IgM. Ils sont assez sensibles pour détecter les Ac mais peu spécifiques pour prédire le risque de thrombose. La spécificité est meilleure pour les IgG à titre élevé (AUTIER *et al.*, 2004).

➤ **Auto-Ac dirigés contre les protéines associées aux phospholipides**

Certains Ac anti-phospholipides réagissent en fait contre une protéine associée aux phospholipides appelée β -2Gp1 (beta(2)-glucoprotéine-1) (AUTIER *et al.*, 2004). Les anticorps anti- β -2Gp1 sont les plus étroitement liés à la complication thrombotique et joueraient un rôle prépondérant *in vivo* (BARTHET, 2007). Les Ac anti- β -2Gp1, mis en évidence par des techniques immunologiques de types ELISA (SEBAHOUN, 2005).

➤ **Autres auto-anticorps dirigés contre des facteurs de coagulation**

Des anticorps dirigés contre des facteurs de coagulation sont produits par des hémophiles traités ainsi que par des patients atteints de LED ou d'autres affections auto-immunes (CHAPEL *et al.*, 2004). Dans les sérums qui contiennent des Ac anti-prothrombine, il existe généralement aussi d'autres Ac anti-phospholipides, en particulier des LA (LA pour lupus anti-coagulant). Le test ELISA anti-prothrombine est loin d'être standardisé et de nombreuses variables influencent les résultats (PREUD'HOMME *et al.*, 2001).

1.2.8.1.3- Auto-anticorps anti-gliadine

La recherche d'anticorps anti-gliadine (AGA) est très largement utilisée pour le dépistage de la maladie cœliaque. Les IgA anti-gliadine ont une spécificité de 85% alors qu'elle n'est que de 60% pour les IgG. En revanche, les IgG présentent une meilleure sensibilité que les IgA (WEILL *et* BATTEUX., 2003). Les IgA sont retrouvées par test ELISA ou immunofluorescence. Les IgG, sont plus facilement détectées par test ELISA, chez les jeunes enfants en particulier. Elles sont moins sensibles au régime. On préfère de doser les IgA aux IgG en cas de déficit sécrétoire en IgA (LABESCAT, 2008).

1.2.8.1.4- Auto-anticorps anti-transglutaminase tissulaire

Selon différentes études publiées, des IgA anti-transglutaminase (AtTG) sont retrouvées dans 95 à 100% des maladies cœliaques avec une spécificité oscillant entre 90 et 100%. Seule la recherche d'IgA, et non d'IgG, anti-tTG offre un intérêt : les IgG ne sont pas spécifique de la maladie cœliaque (WEILL *et* BATTEUX., 2003). Le dosage des anticorps IgA anti- tTG est généralement réalisé par technique immuno-enzymatique (BARTHET, 2007).

1.2.8.1.5- Auto-anticorps anti-endomysium

La présence d'anticorps IgA anti-endomysium (EMA) constitue un témoin sensible de la gravité et de l'activité de l'atrophie villositaire due au gluten dans la maladie cœliaque et de la dermatite herpétiforme. Le test présente une sensibilité (> 90%) et une spécificité (> 95%) élevées. Les Ac disparaissent rapidement après instauration du régime sans gluten et sont utilisés pour assurer le suivi de l'affection. Ils sont dirigés contre la matrice extracellulaire qui entoure les fibres musculaires individuelles. Les Ac IgG anti-endomysium sont moins spécifiques que les Ac IgA anti-endomysium ; toutefois, leur détection peut être utile pour les patients atteints de maladie cœliaque et de déficience en IgA. L'Ag contre lequel sont dirigés les anticorps a été identifié récemment comme la transglutaminase (BOSSUYT *et* BOEYNAEMS, 2001).

Le test de sérologie actuellement disponible sur le marché avec la plus grande sensibilité et spécificité de l'anti-endomysium IgA est l'immunofluorescence (COULSTON *et al.*, 2012).

1.2.8.1.6- Auto-anticorps anti-thyroperoxidase

Les anticorps anti-thyroperoxidase (ATPO) sont dirigés contre cette enzyme, et sont situés dans la fraction microsomiale ; ils sont exprimés à la surface des cellules et sont identiques aux Ac anti-microsomaux (MODIGLIANI *et al.*, 1998). Trois méthodes ont été utilisées pour détecter les ATPO dans le sérum : l'ELISA, la méthode d'immuno-blotting, et celle d'immunoprécipitation (CARAYON et RUF, 1990).

1.2.8.1.7- Auto-anticorps antithyroglobuline

Les anticorps antithyroglobuline (ATG) sont dirigés contre un nombre restreint d'épitopes de la molécule d'ATG. Ils forment avec elle des immuns complexes. Expérimentalement, on peut induire des lésions thyroïdiennes chez le lapin par immunisation contre la ATG (MODIGLIANI *et al.*, 1998). Des titres généralement élevés d'Ac anti-thyroglobuline sont détectés par hémagglutination passive ou par des méthodes immuno-enzymatiques (ELISA), chez les patients atteints de thyroïde de Hashimoto (PONVERT *et al.*, 1991).

1.2.8.1.8- Auto-anticorps anti mitochondries

Les anticorps anti mitochondries (AMA) sont étroitement associés à la cirrhose biliaire primitive, principalement dans leur spécificité anti-M2 (anti-pyruvate déshydrogénase ou PDH) (BARTHET, 2007). Les Ac anti-mitochondries sont présents chez 90 à 95 % des patients ayant une maladie évoluée. Ils sont généralement observés en IFI (BERREBI, 2006).

1.2.8.1.9- Auto- anticorps anti-microsomes de foie et de rein

Les anticorps LKM (Liver-kidney-Microsomal) sont dirigés contre les composants du cytochrome P450 et contre l'UDP-glucuronyl transférase. Les Ac se rencontrent dans l'hépatite auto-immune chronique active chez un petit pourcentage de patients atteints d'une hépatite C chronique (LKM-1) et dans le sérum des patients avec l'hépatite chronique C (LKM-3). Les Ac LKM sont détectés au moyen de l'immunofluorescence indirecte et donnent une positivité au niveau des microsomes hépatiques et des tubules rénaux proximaux (BOSSUYT et BOEYNAEMS, 2001).

1.2.8.1.10- Auto-anticorps anti-facteur intrinsèque

Les AAc anti-facteur intrinsèque (FI) sont présents chez environ 60 % des malades atteints d'anémie de Biermer. Ils sont de deux types : type 1 bloquant la fixation de la vitamine B₁₂ au facteur intrinsèque et type 2 empêchent l'absorption du complexe vitamine B₁₂- facteur intrinsèque dans l'intestin grêle (KUBAB, 2006). Les Ac sont détectés par EIA (Enzyme Immuno Assay) (BOSSUYT et BOEYNAEMS, 2001).

1.2.8.1.11- Auto-anticorps anti-CCP

Ce sont les anticorps anti-peptides cycliques citrullinés (A CCP), d'une sensibilité de plus de 70 % et spécificité de plus de 90 % dans la PR (Polyarthrite Rhumatoïde). Peuvent être positifs alors que les facteurs rhumatoïdes sont absents. Ce sont des marqueurs diagnostiques et pronostiques de la PR. Une terminologie internationale préfère le terme d'ACPA (Anti-Cyclic Citrullinated Peptide Antibody) (BOISSIER, 2011). Ces Ac, détectés par ELISA (VAUBOURDOLLE, 2007).

1.2.8.1.12- Facteurs rhumatoïdes

L'Anticorps anti-Fc d'IgG (Ac anti Fragment constant d'IgG) est le plus souvent de type IgM, plus rarement IgG ou IgA (MENKES *et al.*, 2004). Il a une exploration biologique classique à valeur diagnostic et pronostique. Il présente une sensibilité et spécificité autour de 70 % dans les PR de moins de un an. Cette recherche est généralement couplée à celle des Ac anti- CCP en vue de l'exploration d'une PR (BOISSIER, 2011).

Les facteurs rhumatoïdes sont détectés par des méthodes d'agglutination (test au latex, méthode de Waaler-Rose), de néphélogéométrie ou par test ELISA. Deux méthodes sont utilisées lors de la détermination, chacune palliant les inconvénients de l'autre ; le test ELISA représente la méthode la plus sensible et la réaction de Waaler-Rose la plus spécifique (MENKES, 2004).

1.2.8.1.13- Auto-anticorps anti-récepteur de TSH

Les anticorps anti-récepteurs de la TSH (anti-R-TSH) sont surtout des IgG, principalement retrouvés dans la maladie de Basedow ou dans le syndrome de Grave (BARTHET *et al.*, 2007).

Les Ac anti-récepteurs de la TSH sont tenus pour responsables de l'hyperactivité fonctionnelle thyroïdienne de la maladie de Basedow, par le biais de leur liaison au récepteur (LEROUEIL-LE VERGER *et al.*, 1996). Les anticorps anti-R-TSH sont décelés par immunoempreintes (EYQUEM, 2000).

1.2.8.1.14- Auto-anticorps anti-insuline

On ne parle habituellement d'anticorps anti-insuline que lors de la survenue d'un diabète de type 1. En effet, l'apparition de ce dernier est généralement secondaire à une destruction auto-immune de la cellule bêta pancréatique par des Ac spécifiques. Quatre catégories d'Ac considérés comme des marqueurs spécifiques du diabète de type 1 (MARSAUDON, 2004) :

- Les Ac anti-GAD (la GAD ou Glutamic Acid Decarboxylase est une enzyme),
- Les Ac anti-îlots ou ICA (Islet Cell Antibodies),
- Les Ac anti-IA2 (Insulinom-Antigen type 2),
- Les Ac anti-insuline.

La détection en radio-immunologie permet de doser les IgG anti-insuline par fixation sur de l'insuline marquée à l'iode 125, correspondant aux anticorps libres dans le sérum (EYQUEM, 2000).

1.2.8.1.15- Auto-anticorps anti-muscle lisse (anti-actine)

L'identification des AAc anti-muscle lisse (anti-*smooth muscle antibodies* : ASMA ou SMA) a été une étape déterminante dans le diagnostic des atteintes auto-immunes de foie. Les Ac anti-muscle lisse reconnaissent des antigènes du cytosquelette, parmi lesquels la desmine, la tubuline, la vimentine, les cytokératines, l'actine (BARTHET *et al.*, 2007). Les Ac anti-muscle lisse sont recherchés à l'aide de l'IFI (BOSSUYT et BOEYNAEMS, 2001).

1.2.8.1.16- Auto-anticorps anti-muscle strié

Les anticorps anti-muscle strié (AMS) réagissent avec les myofibrilles du muscle squelettique et du muscle cardiaque, et principalement avec la myosine présente au niveau des striés « A ». Un des antigènes cibles des AAc anti-muscle strié présents dans la myasthénie. La détection de ces auto- Ac est réalisée en IFI (BARTHET *et al.*, 2007).

1.2.8.1.17- Auto-anticorps anti-cellules stéroïdiennes (SCA)

Les anticorps contre les cellules stéroïdiennes : ils réagissent avec les cellules de leydig, la granuleuse ovarienne et les cellules de la thèque interne. La présence de tels Ac est un signe qui annonce l'insuffisance ovarienne, spécialement chez les personnes qui souffrent de maladie d'Addison ou d'une autre maladie auto-immune (CHAPEL *et al.*, 2004). La méthode de détection de ces AAc la plus utilisée jusqu'ici a été immunofluorescence indirecte (GOROCHOV et PAPO, 2000).

1.2.8.1.18- Auto-anticorps anti-récepteur de l'acétylcholine

Les anticorps anti-récepteur de l'acétylcholine affaiblissent la réception du signal, qui émis par les extrémités nerveuses, cause la contraction des cellules musculaires (ROSEN *et* GEHA, 2010).

La myasthénie est caractérisée par la présence d' Ac contre les récepteurs nicotiques de l'acétylcholine. Les Ac bloquent l'interaction de l'acétylcholine et du récepteur post-synaptique du muscle squelettique provoquant une faiblesse musculaire (BOSSUYT *et* BOEYNAEMS, 2001). On en a tiré parti pour mettre au point un dosage radio-immunologique des Ac anti-récepteur de l'acétylcholine (AChR) (CHAPEL *et al.*, 2004).

1.2.8.1.19- Auto-anticorps anti-peau

Les anticorps anti-peau sont responsables de diverses affections auto-immunes de l'épiderme et de la jonction dermo-épidermique. On distingue les Ac anti--membrane basale dermo-épidermique et les Ac anti-substance intercellulaire. La recherche de ces AAC repose sur leur mise en évidence dans le sérum des patients par IFI (BARTHET *et al.*, 2007).

1.2.8.1.20- Auto-anticorps anti Myelin-Associated Glucoprotein (Anti-MAG)

Les anticorps anti-MAG (myelin-associated glucoprotein) sont associés à une neuropathie sensitive inaugurale puis sensitivo-motrice à prédominance sensitive symétrique, lentement progressive, touchant le plus souvent l'homme à la soixantaine. (BARTHET *et al.*, 2007). Les Ac anti-MAG sont identifiable par ELISA ou par immuno-empreinte (EYQUEM *et al.*, 2000).

1.2.8.2.- Détection d'une immunité à médiation cellulaire

1.2.8.2.1- Tests cutanés à lecture retardée

Ils sont parfois positifs chez certains patients atteints de thyroïdites auto-immunes ou d'insuffisance cortico-surrénalienne AI (maladie d'Addison) lorsqu'ils sont pratiqués avec des extraits antigéniques adéquats (PONVERT *et al.*, 1991).

1.2.8.2.2- Méthodes d'études in vitro

Les tests de transformation lymphocytaire(TTL) et test de la migration leucocytaires(TML), sont fréquemment positifs chez les patients atteints de thyroïdite AI, de maladie d'Addison et de sclérose en plaques. Leur positivité est inconstante dans la rectocôlite ulcéro-hémorragique (RCH) et au cours de certaines glomérulonéphrites auto-immunes (PONVERT *et al.*, 1991).

Des lymphocytes T cytotoxiques (LTc) réagissent avec la membrane synoviale, les hépatocytes ou les cellules intestinales ont pu être détectés chez des patients atteints d'hépatites virales, de RCH ou de maladie de Crohn, respectivement (PONVERT *et al.*, 1991).

Tableau 3 : Pathologies auto-immunes selon les types des auto-anticorps (TALAGAS et *al.*, 2007).

Non spécifique d'organe		Spécifique d'organe	
Auto-anticorps	Orientation étiologique	Auto-anticorps	Orientation étiologique
Anti-nucléaire	Connectivite : LED+++ ou autre maladie auto-immune	Anti-récepteur de la TSH (TRAK)	Maladie de Basedow
Anti-phospholipide	Idiopathique (syndrome des anti-phospholipides primaire)	Anti-thyropéroxydase (TPO)	Thyroïde de Hashimoto Myxoedème idiopathique Maladie de Basedow
Facteur rhumatoïde	Connectivite : PR+++	Anti-ilôts de langerhans (ICA), Anti-GAD, Anti- IA ₂ , Anti-insuline	Diabète de type I
Anti-ccp	Polyarthrite rhumatoïde	Anti- facteur intrinsèque, Anti- cellules pariétale gastrique	Maladie de Biermer
Anti-muscle lisse (anti-actine+++)	Hépatite auto-immune (type I)	Anti-endomysium, Anti- transglutaminase tissulaire	Maladie coeliaque
Anti-microsome de foie et rein(anti-LKM ₁ +++)	Hépatite auto-immune (type II)	Anti-substance intercellulaire	Pemphigus
Anti-mitochondrie	Cirrhose biliaire primitive	Anti-membrane basale épidermique	Pemphigoïde bulleuse
Anti-cytoplasme des PNN (ANCA)	cANCA	Maladie de Wegener	Anti-récepteur de l'acétylcholine
	pANCA	Syndrome de Churg et Strauss	Anti-MAG
		Polyangéite microscopique Périarthrie noueuse (rare)	Anti-membrane basale glomérulaire

cANCA = cytoplasmicANCA (fluorescence cytoplasmique); *pANCA*= périnuclearANCA (fluorescence périnucleaire).

1.2.9.- Traitement des maladies auto-immunes

Il n'existe pas ou peu de traitements spécifiques des maladies auto-immunes. Les médecins ont recours à une inhibition généralisée du système immunitaire en administrant (ESPINOSA et CHILLET, 2010) des :

a. Médicaments immunodépresseurs

Par exemple, les corticoïdes à forte doses (1 à 3 mg/kg/jour). Les alkylants, comme le cyclophosphamide (Endoxan*), ou certains anti-métabolites, comme l'azathioprine (Imurel*) (PONVERT *et al.*, 1991), sont souvent prescrits avec l'intention de ralentir la prolifération des lymphocytes. En déprimant la réponse immunitaire en général, de tels médicaments peuvent réduire la gravité des symptômes AI. Cependant, la réduction généralisée de la capacité de la réponse immunitaire expose le patient à un plus grand risque d'infection ou au développement de cancers (KINDAT *et al.*, 2008).

b. Sérums anti-lymphocytaires

Un autre agent thérapeutique envisagé pour le traitement de l'auto-immunité est l'anticorps monoclonal Rituxan, qui tue les cellules B en ciblant le marqueur membranaire CD20. En raison du fait que les Ac jouent un rôle majeur dans les maladies auto-immunes telles que la sclérose en plaques, la polyarthrite rhumatoïde et le lupus érythémateux disséminé, l'élimination des cellules B pourrait être bénéfique (KINDAT *et al.*, 2008).

c. Plasmaphérèse

La plasmaphérèse consiste à prendre le sang, à séparer le plasma et à rendre au patient la fraction enrichie en globules rouges (CHAPEL *et al.*, 2004). Cette méthode permet de faire passer le plasma en dérivation sur un circuit contenant un immunoabsorbant, afin de réaliser une immunoépuration, c'est-à-dire une élimination sélective des antigènes ou d'Ac (REVILLARD, 2001).

d. Thymectomie

Une autre approche thérapeutique qui a donné des résultats positifs dans certains cas de myasthénie grave est la thymectomie. Etant donné que les patients atteints de cette maladie ont souvent des anomalies du thymus (par exemple une hyperplasie thymique ou des thymomes), la

thymectomie chez l'adulte augmente souvent la probabilité de rémission des symptômes (KINDAT *et al.*, 2008).

e. Irradiation lymphoïde totale

Une forte irradiation (10 séances de 200 rads) a été utilisée avec succès chez les sujets atteints d'arthrite rhumatoïde sévère ; cependant, ce type de traitement est réservé aux formes résistantes aux autres traitements, du fait de ses inconvénients (cytopénies, susceptibilité accrue aux infections, etc.) (PONVERT *et al.*, 1991). Idéalement, le traitement des maladies auto-immunes devrait avoir pour le but de ne réduire que la réponse auto-immune, tout en laissant intact le reste du système immunitaire. Jusqu'à présent, ce but idéal n'a pas été atteint (KINDAT *et al.*, 2008).

*Chapitre II: Technique
immuno-enzymatique
« ELISA »*

Chapitre II : Technique immuno-enzymatique « ELISA »

Les méthodes immunologiques sont toutes des méthodes (quantitatives ou qualitatives) faisant appel à des anticorps. Cette classe de protéines particulières à une capacité extraordinaire à reconnaître des molécules spécifiques. Cette reconnaissance spécifique est bien sûr exploitée par le système immunitaire pour remplir son rôle protecteur par exemple contre les agents infectieux. Elle a aussi été exploitée depuis longtemps dans divers techniques de laboratoire pour détecter avec une sensibilité et une spécificité élevées toutes sortes de molécules notamment d'intérêt médical. Dans le contexte forensique, on en trouve des applications surtout dans des tests spécifiques du sang humain, des tests du sperme, ou dans des tests de détection de stupéfiants (COQUOZ et TARONI, 2006).

Les méthodes immunologiques utilisées en laboratoire de biologie clinique font appel à l'immunoprécipitation en milieu liquide, à l'immunodiffusion ou à l'utilisation d'Ac marqués (enzymo-immunologie, radio-immunologie ou fluoro-immunologie) (VAUBOURDOLLE, 2007).

2.1.- Antigènes (Ag) et anticorps (Ac)

2.1.1.- Antigènes

Un antigène est une substance naturelle ou synthétique, reconnue comme étrangère par le système immunitaire de l'organisme dans lequel elle s'introduit. Il possède une partie spécifique dont la structure lui est propre : cette région est appelée « déterminant antigénique » ou « épitope » (NGUYEN *et* BOUROUINA, 2008).

Les Ag complets (haptène + immunogène) sont des macromolécules de nature généralement protéique. Toutefois, polysaccharides, lipides (couplés à des protéines), acides nucléiques (formant l'ADN des noyaux) peuvent eux aussi se révéler antigéniques (RUFFIE, 1993). Le pouvoir antigénique est en général, d'autant plus fort que le poids moléculaire (PM) est élevé. La plupart des Ag ont un PM supérieur à 100.000 Da (PONVERT *et al.*, 1991).

2.1.2.- Anticorps (Ac) ou immunoglobuline (Ig)

Les anticorps sont des complexes polypeptidiques de haut poids moléculaire (150 kDa). Chaque Ac est composé de quatre chaînes polypeptidiques comprenant deux chaînes légères(L) identiques et deux chaînes lourdes(H) identiques (GOROCHOV et PAPO, 2000).

Chaque chaîne est constituée par la répétition de domaines, dites « domaines anticorps » de structure sensiblement identique. Ce sont des domaines globulaires formés par le repliement en

« sandwich » de feuillets β -plissés, le repliement étant stabilisé par un pont disulfures intra-chaine (GOROCHOV et PAPO, 2000).

Les molécules des cinq classes d'Ac ont la forme d'un Y. L'extrémité des bras de l'Y est variable ; c'est le site de liaison à l'Ag qui confère à l'Ac sa spécificité. La tige de l'Y est responsable des propriétés fonctionnelles de l'Ac, c'est-à-dire de son devenir une fois qu'il est lié à l'Ag (SHERWOOD, 2006).

Un Ac porte deux sites de liaison identiques à l'Ag, un à l'extrémité de chaque bras de l'Y. Le fragment de liaison à l'antigène (Fab, pour Antigen Binding Fragment), caractéristique de chaque anticorps ne peut se lier qu'un motif antigénique donné. A l'opposé de la variabilité du Fab, la tige de tous les Ac d'une même classe d'immunoglobulines est identique. C'est le fragment cristallisable (Fc) (SHERWOOD, 2006).

Trois classes principales d'immunoglobulines (Ig) ont été décrites : les IgG, les IgM et les IgA, ainsi que deux classes secondaires : les IgD et les IgE.

- Les IgM sont les premières Ig synthétisées au cours d'une réponse immunitaire.
- Les IgG, leur rôle est fondamental dans les défenses de l'organisme contre l'infection ou les agressions toxiques.
- Les IgA sont retrouvées dans le sérum (IgA sériques) et dans les sécrétions externes (IgA sécrétoires) qui jouent un rôle dans la défense des muqueuses. La fonction biologique des IgA sériques est peu connue.
- Les IgD sont retrouvées dans le sérum à une très faible concentration, on les trouve également liées à la surface des lymphocytes B.
- Les IgE se trouve liées aux membranes des mastocytes et des polynucléaires basophiles. Le rôle essentiel des IgE consiste en une protection contre les parasites de l'homme (AUDIGIE *et al.*, 1992).

2.1.3.- Réaction antigènes-anticorps

La réaction antigènes-anticorps est une association de deux molécules d'une exquise spécificité : les interactions qui se produisent *in vivo* chez les vertébrés sont essentielles à la protection de l'animal contre les attaques continues de virus, de micro-organismes, de certaines macromolécules et de cellules cancéreuses. *In vitro*, cette même spécificité a permis l'élaboration d'une variété de tests détectant la présence de l'Ag ou de l'Ac. Ces tests sont importants pour le

diagnostic des maladies, l'identification des virus, de bactéries ou de parasites, le suivi de la réponse humorale et des problèmes immunologiques (PRESCOTT *et al.*, 2003).

2.2.- Test immuno-enzymatique

Le test immuno-enzymatique est une méthode analytique quantitative où l'un des partenaires réactifs (Ac ou Ag) porte un marqueur enzymatique (BURMESTER *et al.*, 2000).

Dans ce cas l'étiquette (l'enzyme) est énorme par rapport à la molécule à doser. Comme les concentrations sont très faibles, la récupération fait appel à un anticorps. Dans un dosage immuno-enzymatique, la méthodologie la plus connue est celle des tests de type ELISA (ROUESSAC *et al.*, 2004).

2.2.1.- Test ELISA

2.2.1.1.- Définition

L'ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay), ou encore EIA, est dépend d'une enzyme et non pas d'un marqueur radioactif. Une enzyme conjuguée à un Ac réagit avec un substrat incolore pour donner un produit de réaction coloré. Un tel substrat est appelé substrat chromogène (KINDAT *et al.*, 2008). De nombreuses enzymes ont été employées pour l'ELISA, y compris (VALDIGUIE *et al.*, 2000) :

- *La peroxydase du raifort.* Son substrat est *l'ortho-phénylène diamine* ou *la triméthyl benzidine*, en présence d'eau oxygénée.
- *La galactosidase d'Escherichia coli.*
- *La phosphatase alcaline d'intestin de veau ou d'E. coli.*

De nombreuses variantes d'ELISA ont été développées, permettant la détection qualitative ou la mesure quantitative d'un Ag ou d'un Ac. Chaque type d'ELISA peut être utilisé qualitativement pour détecter la présence d'un Ac ou d'un antigène. De façon alternative, une courbe standard fondée sur des concentrations connus d'Ac ou d'Ag est préparée; à partir de cette dernière, la concentration inconnue d'un échantillon peut être déterminée (KINDAT *et al.*, 2008).

L'ELISA permet le dosage des anticorps. La technique consiste à doser l'Ac contenu dans le sérum du patient (GUINDO, 2006).

2.2.1.2.- Principe général de techniques immuno-enzymatiques

Le principe de ces dosages est fondé sur la réaction entre un antigène et deux anticorps dont l'un est marqué (AUDIGIE *et al.*, 1992) dans lequel l'Ag ou l'Ac après leur liaison à une phase solide est détecté à l'aide d'un ligand couplé à une enzyme qui convertit un substrat chromogène en produit coloré (JANEWAY et TRAVES, 2003).

2.2.1.3.- Différent types de test ELISA

2.2.1.3.1.- ELISA directe

Pour mettre en évidence l'antigène A, on couple chimiquement à une enzyme l'anticorps purifié spécifique de l'Ag A. Les échantillons à tester sont distribués dans des puits en plastiques (JANEWAY et TRAVES, 2003), l'Ag du pathogène immobilisé (LEPOIVRE, 2003) à leur paroi de manière non spécifique. L'Ac marqué est alors ajouté au puits dans des conditions évitant les fixations non spécifiques, de sorte que seule la liaison à l'Ag A retienne l'Ac marqué sur la phase solide. L'Ac non fixé est éliminé des puits par lavage, et l'Ac fixé est détecté par une réaction chromogène dépendant de l'enzyme. Cette technique permet l'utilisation de plaques multipuits souvent appelées plaques de microtitrage qui peuvent être lues par photométrie optique multicanaux, ce qui rend la technique beaucoup plus rapide. Des modifications de cette technique permettent la détection d'anticorps ou d'antigènes dans des échantillons de composition inconnue (JANEWAY et TRAVES, 2003).

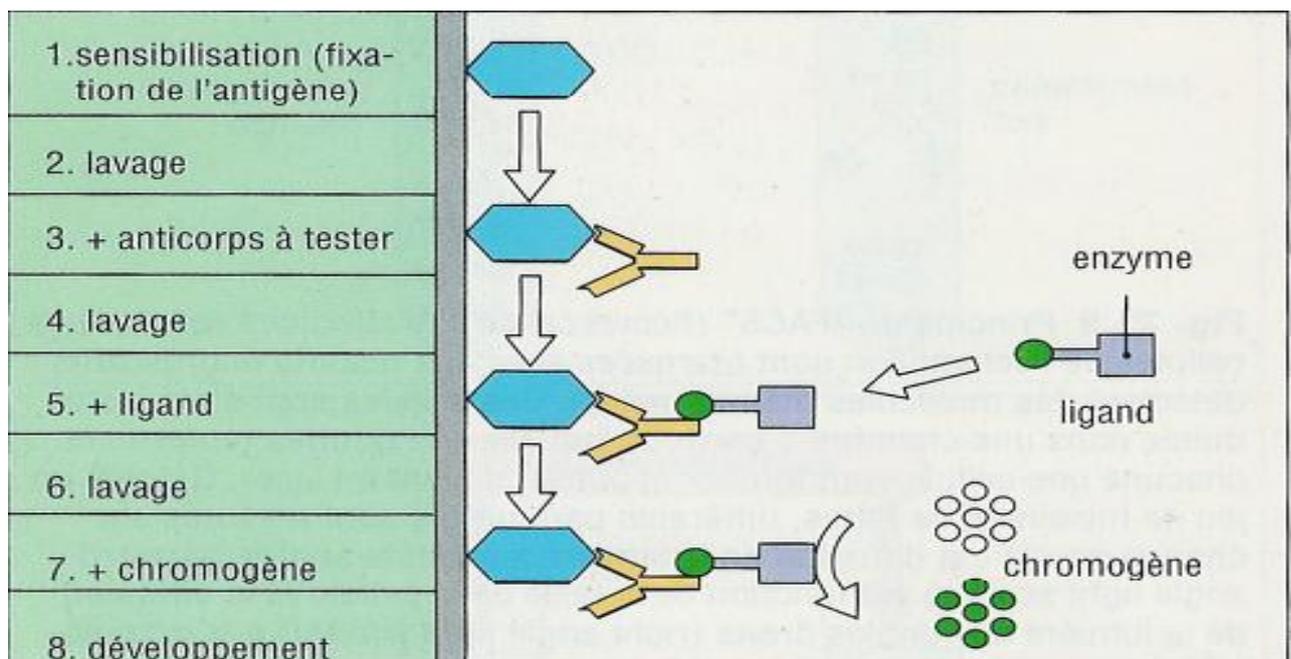


Figure 1 : ELISA directe (ROITT *et al.*, 2002).

2.2.1.3.2.- ELISA indirecte

Les tests ELISA indirects sont les tests les plus couramment utilisés pour détecter les Ac spécifiques d'un Ag particulier. Ils reposent sur l'immobilisation d'un antigène, en général sur du plastique (polystyrène), l'Ag servant ensuite à capturer spécifiquement les Ac correspondants présents dans un sérum. Après lavage, les Ac ayant interagi avec l'Ag sont eux-mêmes détectés à l'aide d'une immunoglobuline marquée, « anti-anticorps conjugué », obtenue dans une autre espèce animale dirigés contre la partie constante des Ac précédents (GOROCHOV *et* PAPO, 2000; LEPOIVRE, 2003).

Ce type d'ELISA est utilisé, par exemple pour vérifier que du sang destiné à la transfusion ne provient pas de donneurs infectés par le HIV (Human Immunodeficiency Virus), ou par le virus de l'hépatite C, etc. (De FRANCO *et al.*, 2009).

Dans cet essai, les protéines recombinantes de l'enveloppe et du corps de l'HIV sont adsorbées en tant qu'antigènes en phase solide dans les puits d'une plaque de microtitration. Les individus infectés par l'HIV produisent des anticorps sériques contre les épitopes de ces protéines virales. Généralement, les Ac sériques contre l'HIV peuvent être détectés par ELISA indirecte dans les six semaines qui suivent l'infection (KINDAT *et al.*, 2008).

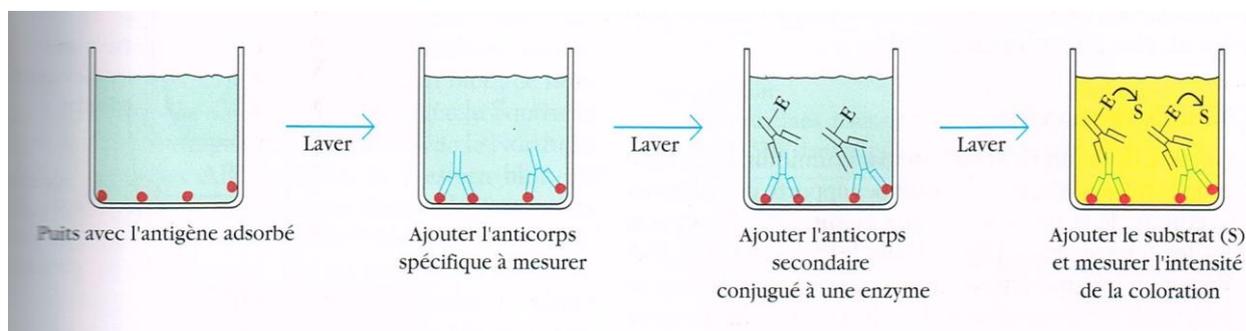


Figure 2 : ELISA indirecte (KINDAT *et al.*, 2008).

2.2.1.3.3.- ELISA sandwich

Analyse en sandwich à double anticorps est une autre variante de l'ELISA qui permet de détecter / dosage la présence d'un antigène spécifique. Elle est appelée analyse en sandwich en raison de l'Ag à détecter est prise en sandwich entre deux couches d'Ac ce qui donne à l'essai un haut degré de spécificité (KHAN, 2009; JANEWAY *et* TRAVES, 2003). Dans ce cas des Ac sont d'abord immobilisés sur une phase solide permettant la capture de l'Ag (GOROCHOV *et* PAPO, 2000).

Un échantillon contenant l'Ag est ajouté ; il réagit avec l'Ac immobilisé. Après que le puits ait été lavé, un second Ac lié à une enzyme, spécifique d'un épitope différent de l'Ag, est ajouté ; il réagit avec l'antigène lié. Après que le second Ac libre ait été éliminé par lavage, le substrat est ajouté et le produit de la réaction coloré est mesuré (KINDAT *et al.*, 2008).

Si l'antigène a été lié à l'anticorps de capture dans la première étape, le test ELISA est positif. Si l'antigène n'est pas reconnu par l'anticorps de capture, aucune liaison de l'Ac de détection, se produite, aucun produit coloré est formé et le test ELISA est négatif (KHAN, 2009).

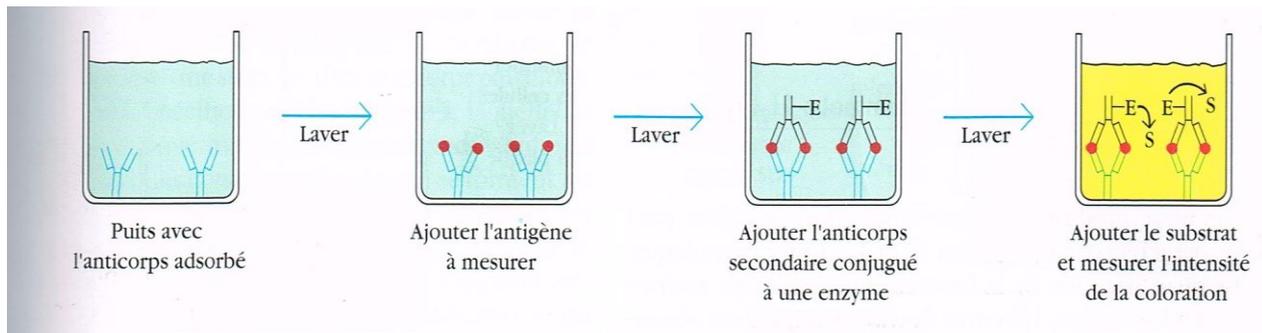


Figure 3 : ELISA sandwich (KINDAT *et al.*, 2008).

2.2.1.3.4.- ELISA compétitif

Une autre variante de mesure des quantités d'Ag est l'ELISA compétitif. Dans cette technique, l'Ac est tout d'abord incubé en solution avec un échantillon contenant l'antigène. Le mélange antigène-anticorps est ensuite déposé dans un puits de microtitration où est adsorbé l'antigène. Plus il y a d'Ag présent dans l'échantillon, moins d'Ac libre sera disponible pour se lier au puits où est adsorbé l'antigène. L'addition d'un Ac secondaire conjugué à un enzyme, spécifique de l'isotype de l'Ac primaire, peut être utilisée pour déterminer la quantité d'Ac primaire liée au puits comme dans un ELISA indirecte. Cependant, dans le dosage compétitif, plus la concentration de l'Ag est élevée dans l'échantillon originale, plus l'absorbance est faible (KINDAT *et al.*, 2008).

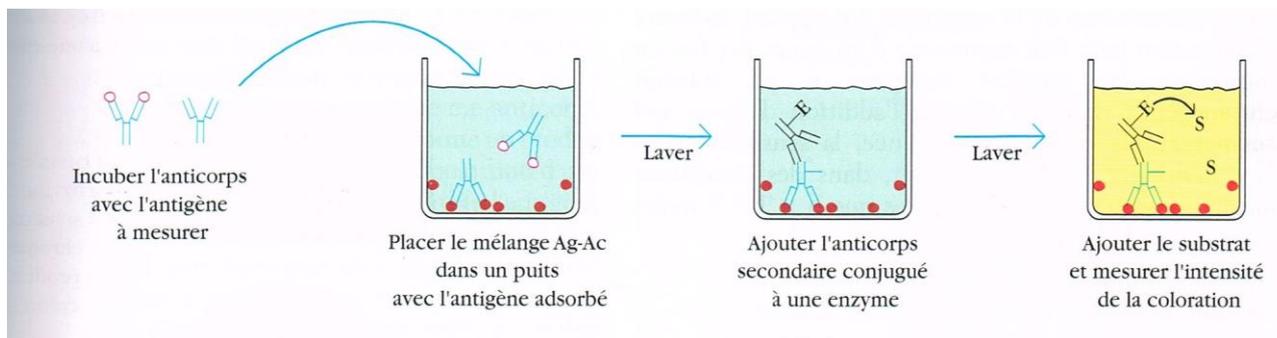


Figure 4: ELISA compétitif (KINDAT *et al.*, 2008).

2.2.1.3.5.- Chimioluminescence

La mesure de la lumière produite par Chimioluminescence lors de certaines réactions chimiques apporte une alternative commode et très sensible aux mesures par l'absorption dans les dosages par ELISA. Dans les versions d'ELISA utilisant la Chimioluminescence, un substrat luxogène (générateur de lumière) remplace le substrat chromogène des réactions conventionnelles d'ELISA. Par exemple, l'oxydation du luminol par H₂O₂ (peroxyde d'hydrogène) et l'enzyme peroxydase de raifort produit de la lumière. La lumière produite pendant la réaction luxogène peut être détectée par exposition d'un film photographique. Une quantification de la lumière émise peut être réalisée avec un luxomètre. L'intérêt des dosages par Chimioluminescence, en comparaison aux dosages colorimétriques, est l'augmentation de la sensibilité. En générale, la limite de détection peut être augmentée d'au moins dix fois en substituant un substrat luxogène à un substrat chromogène; de plus, grâce à l'addition d'agent qui augmente la Chimioluminescence, la sensibilité peut être multipliée par 200. En fait, dans des conditions idéale, des quantités aussi faibles que 5×10^{-18} moles d'Ag cible ont été détectées (KINDT *et al.*, 2008).

2.2.1.3.6.- Dosage ELISPOT

ELISPOT signifie Enzyme-Linked ImmunoSpot qui est une adaptation du test ELISA dans laquelle une suspension cellulaire est incubée en présence d'Ac ou d'Ag fixés à un support plastique. L'antigène ou l'anticorps peuvent capter les produits sécrétés par les cellules. Ceux-ci peuvent alors être détectés par des Ac marqués par des enzymes qui clivent un substrat chromogène pour former localement des tâches colorés (JANEWAY et TRAVES, 2003; KALYUZHNY, 2005).

Le test ELISPOT sert à la détection des cellules B productrices d'un Ac spécifique ou des lymphocytes T sécrétant des cytokines. Dans le premier cas, la suspension des lymphocytes est disposée sur une plaque couverte d'antigène. L'Ac se lie à l'Ag à proximité immédiate de la cellule sécrétrice. Les cellules sont éliminées, et les zones où l'Ac s'est fixé sont détectées par un anticorps anti-immunoglobulines couplé à une enzyme, auquel on ajoute un chromogène (ROITT *et al.*, 2002).

Pour la détection des cellules productrices d'une cytokine, les Ac spécifiques de cytokines sont fixés au fond du puits de culture. Les cellules T activées ajoutées aux puits sédimentent sur la surface recouverte d'Ac. Si une cellule T sécrète la cytokine recherchée, celle-ci sera captée par les molécules d'Ac autour de la cellule T. Après un temps d'incubation, les cellules T sont éliminées, et la présence des cytokines spécifiques est détectée au moyen d'un second Ac spécifique de la

cytokine et couplé à une enzyme. Chaque cellule T sécrétrice de la cytokine formera un spot coloré, d'où le nom du test (JANEWAY et TRAVES, 2003; ROITT *et al.*, 2002).

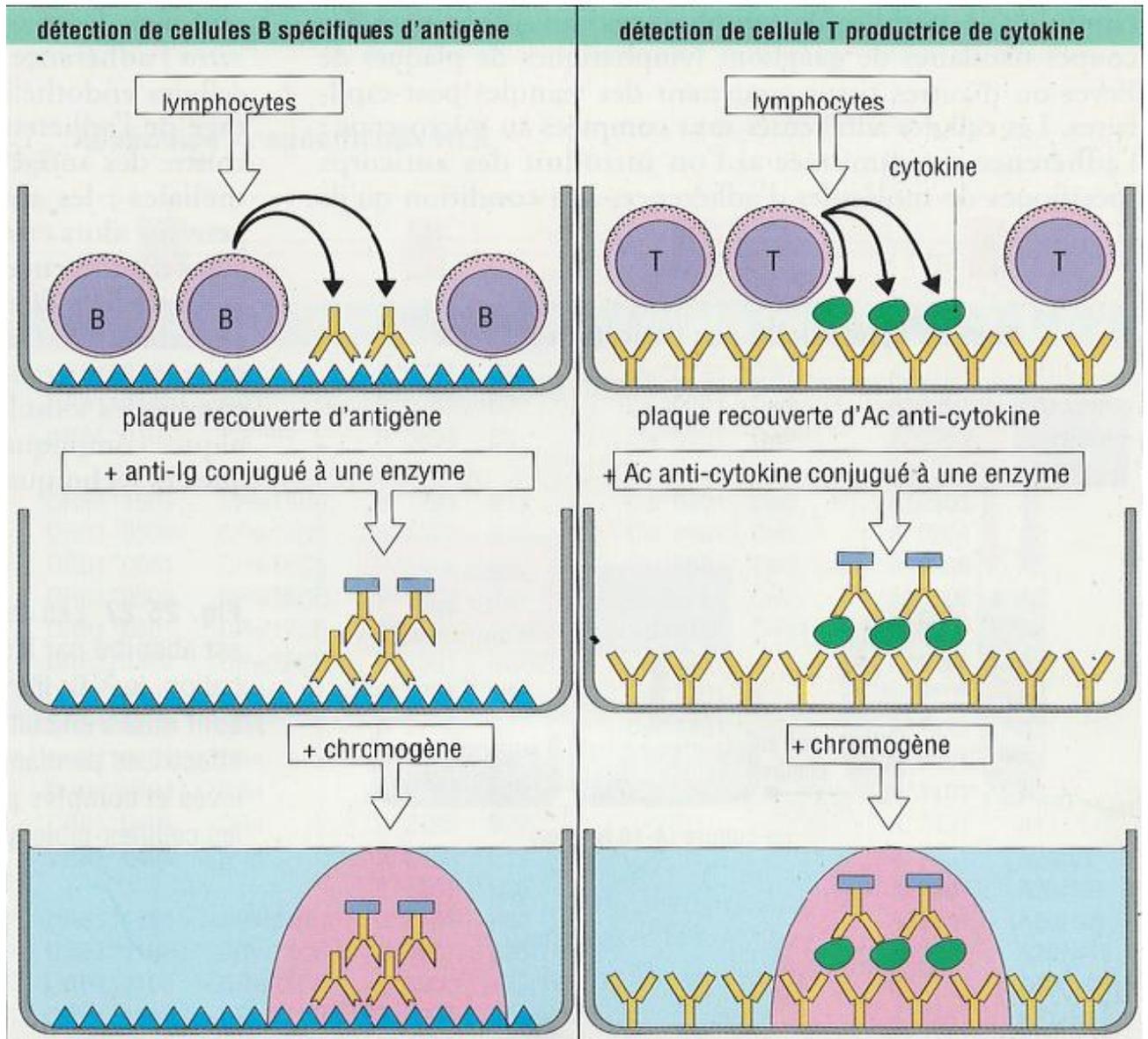


Figure 5: ELISA ELISPOT (ROITT *et al.*, 2002).

2.2.1.4.- Raisons du succès des tests ELISA et leurs limites

Le test ELISA est largement utilisé en biologie et en médecine aussi bien qu'en immunologie (JANEWAY et TRAVES, 2003), pour déceler la présence de petites quantités de protéines spécifiques ainsi que d'autres substances biologiques, aussi bien dans les laboratoires de recherche que dans les laboratoires d'analyses médicales (VOET et VOET, 2005).

Il se prête particulièrement bien aux travaux de routine portant sur des grandes séries d'échantillons (diagnostic d'une maladie particulière ou contrôle sanitaire) (LEPOIVRE, 2003), et

à la recherche simultanée de plusieurs virus différents. Elle répond donc parfaitement aux exigences du dépistage et de l'identification des virus (ASTIER *et al.*, 2001).

Par exemple, un test de grossesse pratiqué couramment et fiable quelques jours après la fécondation, utilise le dosage ELISA pour déceler la présence de l'hormone placentaire appelée gonadotrophine chorionique dans l'urine maternelle (VOET *et VOET*, 2005).

Le développement spectaculaire de la technique ELISA au cours de dernières années est dû à plusieurs facteurs. Certains sont liés au protocole du test lui-même : il est simple et facilement standardisable (ASTIER *et al.*, 2001) et automatisable (LEPOIVRE, 2003).

Ces dosages approchent la sensibilité des RIA (Radio Immuno Assay) et ont l'avantage de ne pas utiliser de radioactivité et d'être moins coûteux (KINDAT *et al.*, 2008) en réactifs et il assure une utilisation rationnelle et économique des anticorps et des antisérums (LEPOIVRE, 2003).

La spécificité des réactions anticorps-antigène fait des méthodes immunologiques des outils très performants pour le diagnostic des maladies induites par des virus, bactéries, ou champignons. L'obtention des Ac peut cependant rencontrer des difficultés qui compromettent la mise au point des tests immunologiques. C'est le cas des maladies étiologie mal définie, ou des affections dont l'agent ne peut être cultivé *in vitro* ou purifié aisément (molécules infectieuses instables, parasites obligatoires). L'approche sérologique s'avère également insatisfaisante lorsque l'agent pathogène présente une grande variabilité et que les tests sérologiques sont spécifiques vis-à-vis d'une (ou de quelques) souche(s) particulière(s) (LEPOIVRE, 2003).

Partie II : Matériels et méthodes

Chapitre III : Matériels et méthodes

Chapitre III : Matériels et méthodes

3.1.- Présentation de La zone d'étude

Ghardaïa est situé dans la partie nord du Sahara, à environ 500 km d'Alger. Il est situé entre $32^{\circ} 30' / 32^{\circ} 41'N$ de latitude et $03^{\circ} 37' / 03^{\circ} 42'E$ longitude à environ 300 mètres d'altitude (HARRATA *et al.*, 2009).

Elle est limitée (BOUSDIRA, 2007) :

- Au Nord par la wilaya de Laghouat ;
- Au Nord Est par la wilaya de Djelfa ;
- A l'Est par la wilaya d'Ouargla ;
- Au Sud par la wilaya de Tamanrasset ;
- Au Sud-ouest par la wilaya d'Adrar ;
- A l'Ouest par la wilaya d'El-Bayadh.

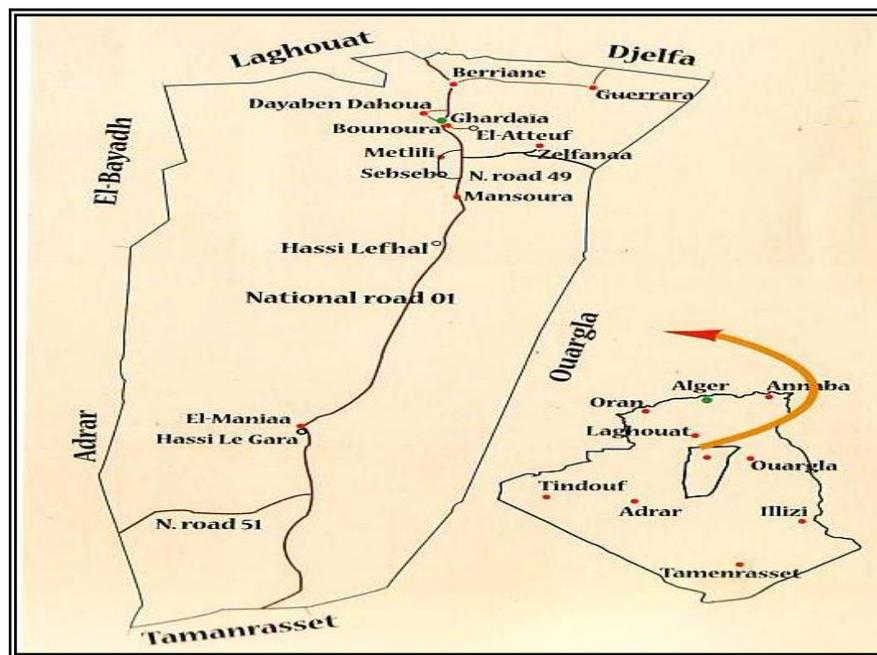


Figure 6 : Situation géographique de Ghardaïa (D.P.A.T, 2002).

La région couvre une superficie d'environ 8105 km² (HARRATA *et al.*, 2009) avec une population de 310 000 habitants dont environ 60% d'ibadites (AUZIAS *et al.*, 2011).

Presque la majorité des citoyens (85%) vivent dans les cinq principales villes construites sur les collines rocheuses: Melika, Beni Isguen, Bennoura, El Atteuf et Ghardaïa (HARRATA *et al.*, 2009).

3.1.1.- Lieu d'étude

L'étude a été réalisée au sein du laboratoire IBN ROCHD d'analyses médicales, situé à la wilaya de Ghardaïa.

3.2.- Echantillonnage

L'étude a touché 773 patients viennent de la région de Ghardaïa ayant une suspicion d'une MAI a été adressés au laboratoire IBN ROCHD d'analyses médicales à Ghardaïa entre 01/01/2011 et 31/12/2011. Chaque patient a rempli un simple questionnaire donnant l'âge, le sexe, la date et le médecin consultant.

Des échantillons sanguins ont été prélevés de patients afin de confirmer la présence ou l'absence d'auto-anticorps.

3.3.- Matériels

Dans ce laboratoire, il y a deux appareils qui ont été utilisés dans la recherche des AAc. Il s'agit:

3.3.1.- VIDAS (mini VIDAS)

L'appareil VIDAS est adopté un principe de dosage associé à la méthode immuno-enzymatique sandwich en deux étape à une détection finale en fluorescence (ELFA) (site web 1).



Photo 1 : Appareil VIDAS "original".

3.3.1.1.-Cartouche

La cartouche est composée de 10 puits recouverts d'une feuille d'aluminium scellée et étiquetée. L'étiquette comporte un code à barres reprenant principalement le code du test, le numéro de lot et la date de péremption du coffret. Le premier puits comporte une partie prédécoupée pour faciliter l'introduction de l'échantillon. Le dernier puits est une cuvette permettant la lecture en fluorimétrie. Les différents réactifs nécessaires à l'analyse sont contenus dans les puits intermédiaires (site web1).



Photo 2: Cartouche utilisée dans l'appareil VIDAS "original".

3.3.1.2.- Cône

Le cône à usage unique sert à la fois de phase solide et de système de pipetage. Il est sensibilisé au moment de la fabrication par un Ac monoclonal (site web1).

3.3.1.3.- Etape de réalisation du test

Toutes les étapes du test sont réalisées automatiquement par l'instrument VIDAS de modèle mini VIDAS qui présente le numéro de série ITV1219309. Elles sont constituées d'une succession de cycles d'aspiration/refoulement du milieu réactionnel (Site web 1) :

1. Sortir uniquement les réactifs nécessaires, les laisser 30 minutes à température ambiante avant utilisation.
2. Homogénéiser à l'aide d'un agitateur de type vertex le calibrateur et/ou le contrôle et les échantillons (pour sérum ou plasma séparé du culot).

3. Placer dans l'instrument les cônes et les cartouches pour chaque échantillon.
4. Démarrer l'analyse. Toutes les étapes sont alors gérées automatiquement par l'instrument.
5. Reboucher les flacons et les remettre à la température préconisée après pipetage.
6. Les résultats sont obtenus en 60 minutes environ. A la fin de l'analyse, retirer les cartouches de l'instrument.
7. Eliminer les cônes et cartouches utilisés dans un récipient approprié.

3.3.2.- TOSOH (AIA 600II)

L'appareil TOSOH (AIA-600II) offre la puissance de l'automatisation et de la performance d'un plus grand analyseur. Il adopte un principe de dosage associé à la méthode immunoenzymatique de type compétitive (site web 2).



Photo 3: Appareil TOSOH "original".

3.3.2.1.- Cup test

Le cup test, en plastique contient douze billes magnétiques lyophilisées recouvertes d'antigène X (AIA-PACK X Ab CUP) et des flacons contenant un liquide d'anti IgG humain (souris/ lapin), Ac monoclonaux conjugués à la phosphatase alcaline bovine avec l'azoture de sodium comme agent de conservation (AIA -PACK X Ab conjugué) (site web 2).



Photo 4: Cup test "original".

3.3.2.2.- Etape de réalisation du test

Comme l'appareil VIDAS, toutes les étapes du test sont réalisées automatiquement par l'instrument TOSOH de modèle AIA-600II qui présente le numéro de série 21753607 (site web 2):

1. Amener tous les réactifs à 18-25 ° C avant de préparer le réactif de travail.
2. Calibrage et étalonnage peuvent être nécessaires plus fréquemment si les contrôles sont hors de la gamme établie pour cet essai ou lorsque certains procédures de service sont effectuées (par exemple réglage de la température, changement de mécanisme d'échantillonnage, l'entretien de la sonde de lavage ou changement de détecteur de réglage de la lampe). La cuve d'étalonnage pour AIA-PACK X Ab est stable pendant 90 jours.
3. Les échantillons de patients nécessitent une dilution avant et sont dilués 51 fois avec AIA-PACK X Ab. Les échantillons de patients, soient dilués ou non, sont placés dans des positions appropriées sur les TOSOH AIA Analyseurs système.
4. Assurer une quantité suffisante de l'AIA-PACK X Ab CUP et conjugué pour le nombre d'échantillons à exécuter.
5. Pour les échantillons qui doivent être dilués, l'AIA-600II effectuera automatiquement la dilution et calculer les résultats si les facteurs de dilution sont entrés dans le logiciel. Les facteurs de dilution peuvent être saisis lors de la programmation des échantillons dans le moniteur de dosage.

3.4.- Analyse statistique

Afin d'exploiter les résultats obtenus, une analyse statistique a été effectuée concernant la mesure de facteur de liaison χ^2 (chi2) entre les paramètres étudiés. La mesure est fais manuellement en utilisant l'Excel.

*Partie III: Résultats et
discussions*

***Chapitre IV: Résultats et
discussions***

Chapitre IV : Résultats et discussions

4.1.- Répartition des cas des recherches des AAc selon le sexe

La répartition des cas de recherches des AAc selon le sexe est présentée dans la figure 7.

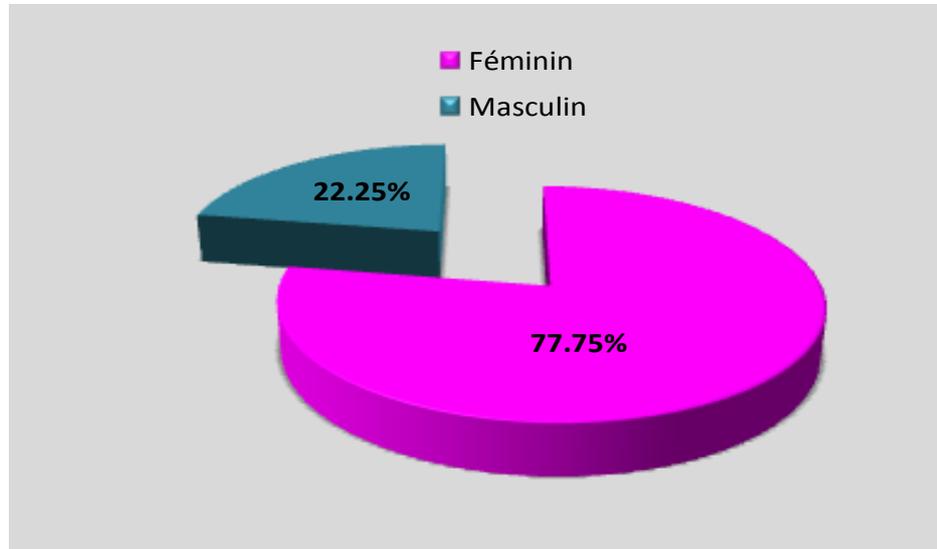


Figure 7: Répartition des cas de recherche des AAc selon le sexe de patients.

Nous constatons que le nombre des patients de sexe féminin prédomine dans ces tests avec un pourcentage de 77.75 %, tandis que le nombre des patients de sexe masculin est faible avec un taux de 22.25%.

4.2.- Répartition des cas de recherche des AAc selon la saison

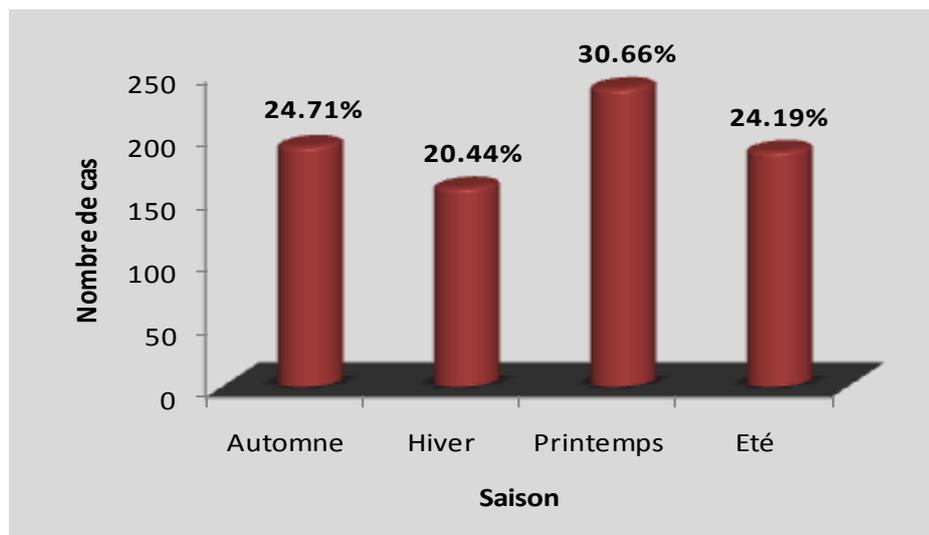


Figure 8: Répartition des cas de recherche des AAc selon la saison.

La figure 8 représente le nombre des cas de recherche des AAc au cours de l'année 2011 selon la saison. Parmi les 773 tests demandés, 237 (30.66%) ont été demandés au printemps, suivi par ceux en automne et l'été 191 (24.71%) et 187 (24.19%) respectivement. En hiver, le nombre des tests est diminué avec 158 patients (20.44%).

4.3.- Répartition des cas positifs et négatifs des AI de chaque type d'AAc

A partir de 773 tests effectués, 440 cas sont positifs (56.92%) qui sont répartis sur les différents types d'AAc (Fig. 9).

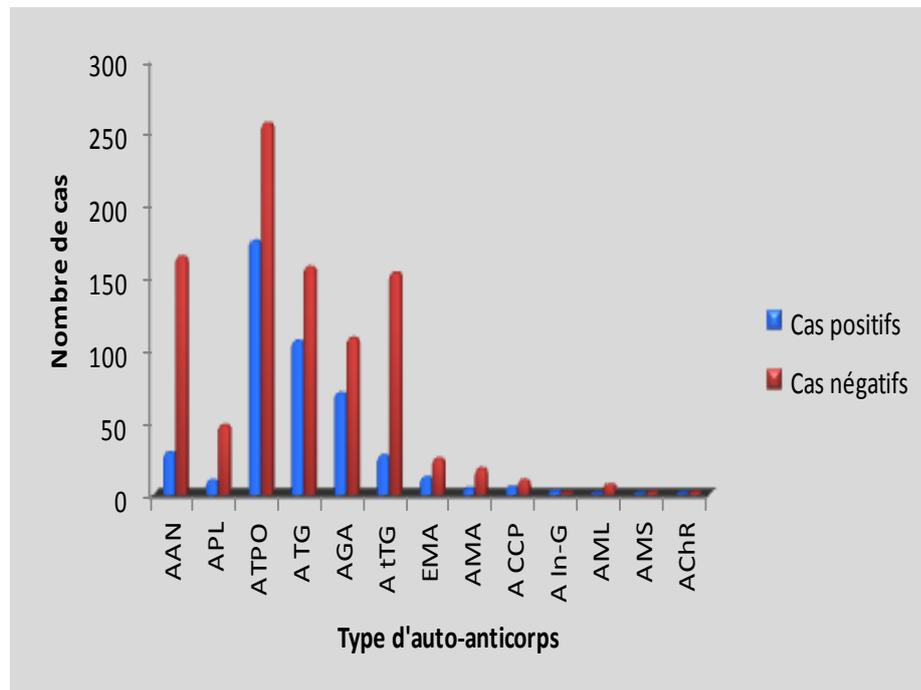


Figure 9: Répartition des cas positifs et négatifs des tests auto-immuns de chaque type d'AAc.

Il est à noter que le nombre de cas positifs des AAc ATPO sont les plus élevées par rapport aux autres types, suivi par les AAc ATG et AGA, en suite les AAc ANN et AtTG, et en dernier lieu, les AAc EMA, APL et AMA. Les AAc A In-G, AML, AMS et AChR présentent des taux très faibles.

Les AAc ATPO et ATG se trouvent chez les patients ayant la thyroïdite auto-immune qu'elle comprend essentiellement deux affections : la thyroïdite chronique auto-immune (maladie de Hashimoto), et la maladie de Basedow. Plusieurs facteurs peuvent avoir un effet sur la prévalence de ces maladies tels que : génétique, environnemental, hormonal, géographique, ethnique, etc. (LEGER, 2010). Le réchauffement climatique a des conséquences sur la santé et sur la prévalence de plusieurs maladies connues actuellement (SWYNGHEDAUW, 2009).

Le diagnostic de l'entéropathie au gluten (maladie coeliaque) est posé en démontrant l'atrophie villositaire sur biopsie avec la détection d'anticorps sériques AGA, EMA et AtTG, de classe IgA et IgG est d'un grand intérêt pour le repérage des nouveaux cas (BERREBI, 2009). La prévalence de la maladie coeliaque augmente surtout si elle est en association avec d'autres maladie auto-immunes telles que le diabète type I et la thyroïdite (FRANZESE *et al.*, 2011 ; RAVAGLIA *et al.*, 2003).

La maladie coeliaque est un modèle biologique unique pour comprendre la complexité des interactions entre le patrimoine génétique (les gènes de la sensibilité au gluten sont situés dans la région D de CMH sur le chromosome 6), la réponse immunitaire individuelle et les facteurs environnementaux notamment le type d'alimentation dans la petite enfance en raison de l'importance du rôle du lait maternel sur l'immunité humorale et cellulaire, et du rôle que joue probablement l'exposition précoce au gluten dans l'absence de développement de la tolérance orale (GRECO et CICCARELLI, 1994).

Les AAc AAN montrent une fréquence dans diverses connectivites telles que le lupus érythémateux aigu disséminé (LEA), érythème molaire (en ailes de papillon), la sclérodermie et la polyarthrite rhumatoïde (LEBWOHL, 2004).

4.4.- Répartition des cas positifs des tests AI de chaque type d'AAc selon l'âge

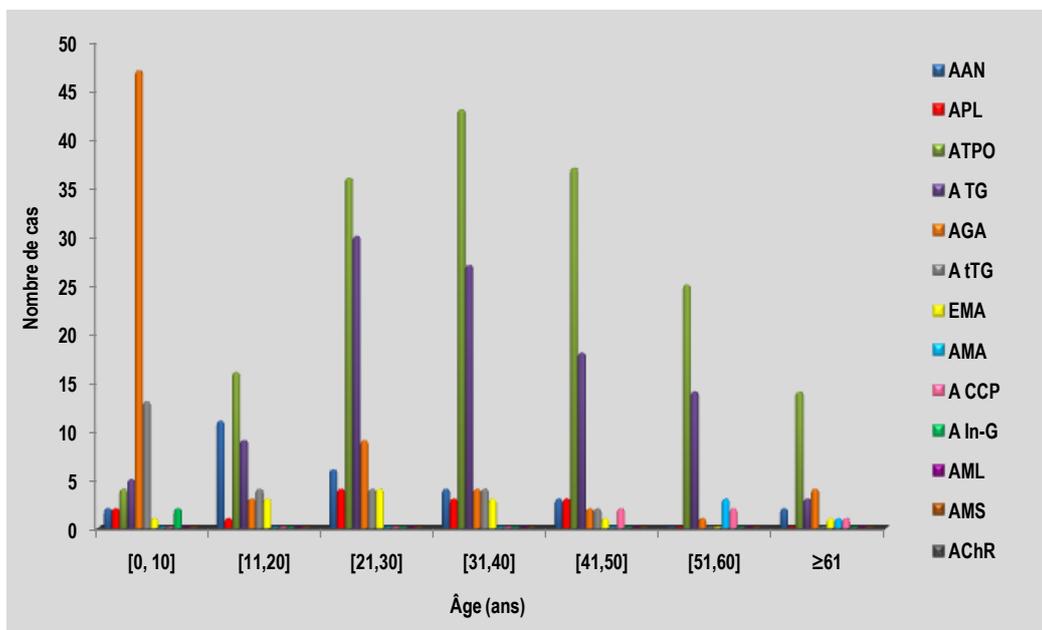


Figure 10: Répartition des cas positifs des tests auto-immuns de chaque type d'AAc selon l'âge de patients.

La répartition des cas positifs selon le type d'AAc et selon l'âge est présentée dans la figure 10. Les résultats obtenus ont montré les AAc les plus rencontrés chez les patients ayant un âge inférieur ou égal à 10 ans sont AGA suivi par AtTG. Alors que les AAN présentent un taux élevés dans l'intervalle de 11ans à 20 ans par rapport aux autres âges. A partir de l'âge de 21ans, on signale une augmentation considérable concernant les AAc anti-TPO et ATG et présentent des valeurs maximales dans les intervalles [21, 30] et [31, 40]. Cependant, l'AMA est remarqué seulement chez les patients âgés (supérieure à 50 ans). L'APL est présent chez les patients de différents âges avec des taux variables. En ce qui concerne l'A In-G n'est détecté que chez les patients d'âge inférieur à 10 ans.

Nous constatons que les patients les plus affectés par les MAI ont un âge moyen de 30 ans avec un taux de 41.14%.

Sur le plan clinique, le vieillissement immunitaire se caractérise par un accroissement de la fréquence des maladies auto-immunes, de la sensibilité aux infections de toute nature, et de l'apparition de pathologies néoplasiques. Mais si différentes anomalies fonctionnelles immunitaires apparaissent avec l'âge, il est encore loin d'être établi qu'elles sont directement la cause de ces différentes pathologies. Le vieillissement affecte incontestablement les défenses immunitaires de l'individu et l'anomalie la plus fréquemment rapportée est une diminution des aptitudes fonctionnelles des cellules T, en particulier de type auxiliaire (CD_4^+). L'involution de la glande thymique est certainement corrélée à cette atteinte préférentielle des lymphocytes T, et l'influence neuroendocrinienne s'exerçant sur cette involution et un facteur à prendre en considération (GEENEN, 1992). Les résultats obtenus par MEUNIER *et al.*, (2012) ont montré que deux maladies auto-immunes, la sclérodémie systémique et polyarthrite rhumatoïde, sont associées à une involution thymique incomplète.

L'analyse de liaison entre deux facteurs qualitatifs (d^2) montre que le type de l'AAc est dépendant à l'âge. En effet, plusieurs études effectuées sur les MAI ont montré la relation étroite entre les MAI et l'âge. Elles ont prouvé qu'il y a des MAI ne touchent que les adultes et qui sont très rares chez les enfants (LED, thyroïdite, rhumatoïde polyarthrite...) car certaines MAI sont stimulées par les hormones sexuelles, comme il y a des MAI qui apparaissent avant l'âge de 16 ans (diabète type I) (FARGE-BANCEL, 2011 ; HENDERSON *et al.*, 2009; BADER-MEUNIER *et al.*, 2003).

4.5.- Répartition des cas positifs des tests AI de chaque type d'AAc selon le sexe

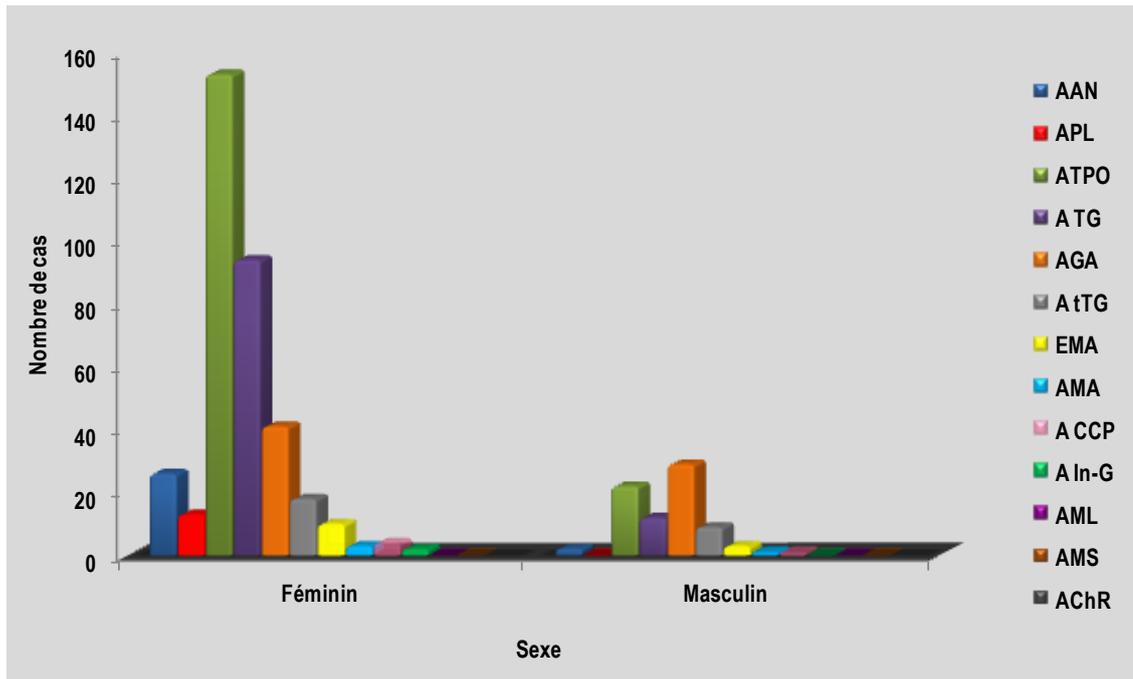


Figure 11: Répartition des cas positifs des tests auto-immuns de chaque type d'AAc selon le sexe de patients.

La figure 11, qui présente la répartition des cas positifs des tests AI selon le sexe, montre une prédominance des résultats chez les femmes que les hommes. Dans les 440 cas positifs enregistré, nous avons trouvé 364 cas (82.73%) sont de sexe féminin. Les AAc plus remarquables sont les ATPO et ATG avec 153 et 94 cas respectivement chez les patients de sexe féminin, qui ne représentent que des taux faibles chez les patients de sexe masculin 22 cas (ATPO) et 12 cas (ATG). Il est à noter que les AAN et APL sont moins répandus que les premiers mais toujours les femmes sont plus affectées que les hommes.

Le calcul de la liaison entre deux facteurs qualitatifs (d^2) montre que le type de l'AAc est dépendant du sexe.

Plusieurs auteurs ont mentionné la prévalence des MAI chez les femmes en comparaison avec les hommes avec un ratio F : H qui dépasse 9 :1 (VOSKUHL, 2011; MEYER, 2005 ; TIBERTI *et al.*, 2003).

Les femmes sont plus sensibles à une variété de maladies auto-immunes, dont le lupus érythémateux disséminé (LED), la sclérose en plaques (MS), la cirrhose biliaire primitive, la

polyarthrite rhumatoïde et la thyroïdite d'Hashimoto. Les hormones sexuelles pourraient jouer un rôle (DOUKAS *et al.*, 2013 ; VOSKUHL, 2011; MAYER et ORGIAEEI, 2000).

Les hormones sexuelles féminines ont un effet direct sur le système immunitaire. L'œstrogène et la prolactine peuvent modifier la survie normale des cellules B auto-réactives dans des modèles expérimentaux. La modulation de système immunitaire par l'œstrogène et la prolactine accélère le développement des titres élevés d'Ac anti-ADN double brin, l'apparition de la néphrite, et conduit à la mort prématurée dans le modèle de lupus spontané femelle de souris FI NZB/NZB (ZANDMAN-GODDARD *et al.*, 2012). En outre, KINDAT *et al.*, (2008) ont signalé que l'œstrogène est une molécule immunostimulante.

En plus, la présence d'ATPO est liée à une fréquence accrue d'avortements spontanés (MAYER et ORGIAEEI, 2000). Enfin, les perturbations de la vie génitale féminine induisant une variation de sécrétion des hormones sexuelles telles que la ménopause et la prise des contraceptifs oraux, sont reconnues comme des facteurs déclenchant des MAI (CHABCHOUB *et al.*, 2006).

4.6.- Répartition des cas des tests AI de chaque type d'AAC selon la saison

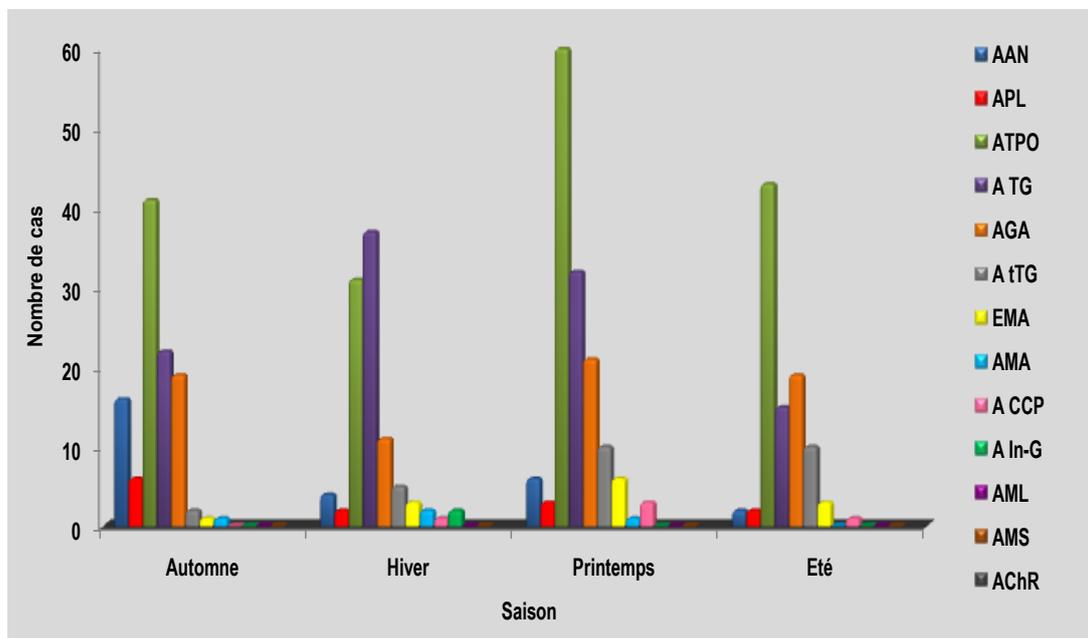


Figure 12: Répartition des cas positifs des tests auto-immuns de chaque type d'AAC selon la saison.

Parmi les 440 tests positifs, 142 cas (32.27%) sont demandés au printemps. La répartition des cas positifs des tests AI de chaque type d'AAC selon la saison est présenté dans la figure 12.

Dans cette figure, on constate que le taux d'ATPO le plus élevé est enregistré en printemps, néanmoins son taux le plus faible est observé en hiver. L'ATG présente des valeurs importantes en hiver et des valeurs basses en été. L'AGA présente un taux faible en hiver en comparaison avec les autres saisons. Les AAN et APL sont caractérisés par des taux élevés en automne. Il est à noter que le taux des AtTG augmente progressivement durant les différentes saisons. Il y a des AAc qui ne sont remarqués que durant une saison spécifiée tel que l'A In-G qui est remarqué en hiver.

La prévalence des MAI en fonction de saison est peu étudiée. KANIKOWSKA *et al.*, (2005) ont étudié les variations saisonnières sur les réponses hormonale et thermorégulatrice de l'organisme humain. Cette étude montre qu'il y a une différence entre les saisons sur le taux de certaines hormones. La saisonnalité des naissances d'enfants atteints de diabète de type 1 a été montré dans un certain nombre d'études épidémiologiques. VAISERMAN *et al.*, (2006) ont prouvé que l'incidence le plus élevé de diabète type 1 est constaté chez les personnes nées au printemps et le début d'été. En ce qui concerne la fréquence de diagnostic, CHAPEL *et al.*, (2004) ont constaté que les variations saisonnières du diagnostic de diabète insulino-dépendant (DID) sont très importantes durant l'automne et l'hiver.

L'indicateur de liaison d^2 montre que les AAc recherchés sont dépendant de saison. Ces résultats peuvent être expliqués par le fait que le changement de climat d'une saison à l'autre va stimuler des processus métabolique et/ou immunologique conduit à l'apparition des MAI. D'autres facteurs tels que les facteurs environnementaux et la prédisposition génétique peuvent accentuer l'effet des saisons sur la prévalence des MAI.

Les agents environnementaux comprennent les infections, les médicaments thérapeutiques, les produits chimiques et les rayonnements. Une relation solide entre ces agents environnementaux et les MAI est difficile à établir que l'exposition à ces agents précède souvent l'apparition de la maladie par une considérable marge. Ces agents modifient les réponses immunitaires en fonction de la susceptibilité génétique de l'hôte et peut être réglementé par la qualité, la quantité et la durée de l'exposition (SHARMA *et al.*, 2010).

L'alimentation joue un rôle non négligeable dans le déclenchement des MAI. Comme elle des récepteurs sur les cellules de système immunitaire, la déficience en vitamine D conduit à l'augmentation de l'incidence des MAI (CUTOLO, 2008).

Conclusion générale

Conclusion générale

Dans le présent travail, nous avons étudié l'importance de l'apport de la technique ELISA lors de diagnostic des maladies auto-immunes. L'étude a été effectuée au laboratoire d'analyse IBN ROCH à la wilaya de Ghardaïa.

Un échantillon de 773 patients enregistrés ont fait des analyses afin de rechercher des AAc de différents types. Les résultats obtenus ont montré que les maladies auto-immunes touchent toutes les tranches d'âge et les deux sexes pendant les quatre saisons.

Les tests d'AAc ont été très demandés chez les femmes (77.75%) que chez les hommes. Ces tests sont très demandés en printemps (30.66%) en comparaison avec les autres saisons.

Selon le type d'AAc recherché, nous avons trouvé que les AAc les plus demandés sont ceux ATPO, ATG, ANN et AGA avec les pourcentages de 55.76%, 34.02%, 24.97% et 23.03% respectivement où les taux des cas positifs pour chacun de ces AAc sont 40.60%, 40.30%, 15.03% et 39.33% respectivement.

Selon l'âge, les enfants sont les plus touchés par les auto-anticorps anti- gliadine (AGA) et les auto-anticorps anti-transglutaminase tissulaire (AtTG) ; à la puberté on trouve les auto-anticorps anti-nucléaire (AAN) et les auto-anticorps anti-thyroperoxydase (ATPO) tandis que les personnes âgées sont les plus touchés par les ATPO, les auto-anticorps anti-thyroglobuline (ATG), et les auto-anticorps anti-phospholipide (APL).

L'analyse statistique effectuée montre la dépendance de type de MAI et les différents paramètres étudiés : l'âge, le sexe et la saison.

Dans la plupart des cas, les facteurs responsables du déclenchement de maladies auto-immunes sont des facteurs héréditaires liés au vieillissement génétique du système immunitaire, à l'environnement, au régime alimentaire et à l'état psychique des patients.

Cette étude constitue le premier pas dans un chemin très long et dur afin de mettre en évidence la prévalence et l'incidence des MAI dans la région de Ghardaïa, les facteurs déclenchant et l'ethnie la plus touchée. Il est nécessaire d'étudier ou d'utiliser d'autres techniques que l'ELISA qui nous permettent de diagnostiquer précocement les MAI, ce qui permet aux patients de survivre de façon normale avec leur maladie et de diminuer leur souffrance.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

1. **ABBAS A. K. et LICHTMAN A. H., 2009-** Les bases de l'immunologie fondamentale et clinique. Ed. Elsevier Masson, France: 1-166.
2. **ASPAR J., ANDROUET M., BASTENAIRE B., DE SILVA A. M., GINET F., MALLAY D., MASSON-MOSCA M. A., MORIN M., NOELL A. M., PINATION C. et POUNENTE M., 2001-** Transfusion. Ed. Estem, Paris: 29.
3. **ASTIER S., ALBOUY J., LECOQ H. et MAURY Y., 2001-** Principes de virologie végétale : génome, pouvoir pathogène et écologie des virus. INRA, Paris: 241.
4. **AUDIGIE Cl., DUPONT G. et ZONSZAIN F., 1992-** Principes des méthodes d'analyse biochimique. 3^{ème} Ed. Doin, France: 111-121.
5. **AUTIER J., MIYARA M., MOULIN N., BUYSE S., LEROLLE N., YOUSOV K., PLANQUETTE B. et LARRAR M., 2004-** Module 8 : Immunopathologie, Réaction inflammatoire. Ed. Estem, Paris: 41-59.
6. **BADER-MEUNIER B., QUARTIER P., DESCHENES G., COCHAT P., HADDAD E., KONE-PAUT I., LEBLANC T., PRIEUR A. M., PRIEUR R., BODEMER C. et LEVY M., 2003-** Le lupus érythémateux disséminé de l'enfant. *Archives de pédiatrie*, vol.10: 147-157.
7. **BARTHET C., BAZIN A., BOURGUIGNAT L., CUVELLIER I., DEBRUYNE M., HUCHET F. X., KLEINFINGER P., LACROIX I., LEWIN P., MAURY L., MONGE M., MONTAGNON M., MOSSAFA H., Olichon D., POVEDA J. D., SZPIRO-TAPIA S. et TROMBERT S., 2007-** Guides des analyses spécialisées. 5^{ème} Ed. Elsevier Masson, France: 42-87.
8. **BAUDRY C. et BRÉZELLE H., 2006-** Microbiologie, immunologie. 2^{ème} Ed. Wolters Kluwer, France: 90.
9. **BERGEREAU E., 2010-** Rôle des LT-CD₈⁺ dans l'auto-immunité du SNC : influence des autres effecteurs de l'immunité adaptative. Thèse de doctorat de l'Université Paul Sabatier – Toulouse III : 14-87.
10. **BERREBI W., 2006-** Hépatologie Gastro-entérologie. Ed. Estem, Paris: 426.
11. **BERREBI W., 2009-** Diagnostics et thérapeutique. Ed. Estem, Paris: 344.
12. **BOISSIER M. C., 2011-** Biothérapies en rhumatologie. Ed. Springer, Paris: XXIV.
13. **BOSSUYT X. et BOEYNAEMS J. M., 2001-** Repères en diagnostic de laboratoire. Ed. Garant, Belgique: 423- 427.
14. **BOUREE P., COLOMBATTO C., CUER P., DAVID M. F., DE SILVA A. M., FUCHS V., ISSAHAR-ZADEH A., LAMONTAGNE F., MACKIEWICZ V., MALLAY D., MANICOT C., MASSON-MOSCA M. A., MATHIEU D., MERCIER N., MERIENNE C., MINOZZI C.,**

- PARNEIX P., ROGUES A. M., ROUX F., TAVERNE V. et TIRAPO C., 2002-** Maladies infectieuses. Ed. Estem, Paris: 38-39.
15. **BOUTAMMINA N. E., 2012-** Le secret des cellules immunitaires- Théorie bouleversant ; immunologie. Ed. Books on Demand, France: 45.
16. **BREZIN A., 2011-** Les uvéites. Ed. Elsevier Masson, France: 36.
17. **BROOKER C., 2000-** Le corps humain : Etude, structure et fonction. Ed. De Boeck Université, Bruxelles: 187-251.
18. **BRUNNER L. S., SUDDARTH D. S., O'CONNELL SMELTZER S. C. et BARE B. G., 1994-** Soins infirmiers en médecine et en chirurgie : système immunitaire et tégumentaire. Volume 5. Ed. Renouveau Pédagogique Inc, Canada: 1452.
19. **BURMESTER G. R., PEZZUTTO A., ULRICHS T. et AICHER A., 2000-** Atlas de poche d'immunologie. Ed. Flammarion Médecine-Science, Paris: 72.
20. **CARAYON P. et RUF J., 1990-** Thyroperoxidase and Thyroïde autoimmunity. 1^{er} Ed. John Libbey Eurotext, France: 265.
21. **CHAPEL H., HAENEY M., MISBAH S. et SNOWDEN N., 2004-** Immunologie clinique : De la théorie à la pratique, avec cas cliniques. Ed. De Boeck Université, Bruxelles: 2-372.
22. **COHEN A., 2002-** Cœur et médecine interne. Ed. Estem, Paris: 11-12.
23. **COQUOZ R. et TARONI F., 2006-** Preuve par l'ADN : la génétique au service de la justice. 2^{ème} Ed. Presses polytechniques et universitaires romandes, Lausanne: 33.
24. **COULSTON A. M., BOUSHEY C. et FERRUZZI M. G., 2012-** Nutrition in the prevention and treatment of disease. Ed. Elsevier, USA: 778.
25. **CUTOLO M., 2008-** Vitamin D or hormone D deficiency in autoimmune rheumatic diseases, including undifferentiated connective tissue disease. *BioMed Central Ltd*, vol. 10, N° 6: 2 pages.
26. **De FRANCO A. L., OCKLEY R. M. et ROBERTSON M., 2009-** Immunité : la réponse immunitaire dans les maladies infectieuses et inflammatoires. Ed. De Boeck Université, Bruxelles: 98-166.
27. **De KERVASDOUE A. et BELAÏSCH J., 2005-** Pourquoi les femmes souffrent-elles davantage et pourquoi vivent-elle plus longtemps ? Ed. Odile Jacob, Paris: 53-54.
28. **DOUKAS C., SALTIKI K., MANTZOU A., CIMPONERIU A., TERZIDIS K., SARIKA L., MAVRIKAKIS M., SFIKAKIS P et ALEVIZAKI M., 2013-** Hormonal parameters and sex hormone receptor gene polymorphisms in men with autoimmune diseases. *Journal of Rheumatol Int*, vol. 33:575–582.
29. **EMMERICH J., MOURAD J. J., PERDU J. et RENY J. L., 2004-** Maladies rares des vaisseaux. Ed. John Libbey Eurotext, Paris: 91.
30. **ESPINOSA É. et CHILLET P., 2010-** Immunologie. Ed. Ellipses, Paris: 24-491.

31. **EYQUEM A., ALOUF J., MONTAGNIER L., ALONSO J. M., BERGOGNE-BEREZIN J., BOIRON P., BUFFET P., CARNIEL E., CASANOVA J. L., GACHOT M., GEORGES A. J., GEORGES-COURBOT M. C., HARF-MONTEIL C., MONTEIL H., LAMASSOURE M., LE GOFF P., SARAUX A., THEZE J., VINCENT V. et YOUINOU P., 2000-** Traité de microbiologie clinique. Ed. Piccin, Italie: 137-214.
32. **FARGE-BANCEL D., 2011-** Thérapie cellulaire et maladies auto-immunes. *La Revue de médecine interne*, vol. 32S: S204–S207.
33. **FERENCIK M., ROVENSKY J., MATHA V. et ROUX H., 2005-** Dictionnaire d'immunologie. Ed. Elsevier, Paris: 20.
34. **FRANZESE A., IAFUSCO D., SPADARO R., CAVALIERE O., PRISCO F., AURICCHIO R., TRONCONE R. et VALERIO G., 2011-** Potential celiac disease in type 1 diabetes: A multicenter study. *Diabetes research and clinical practice*, vol. 92: 53-56
35. **GEENEN V., 1992-** vieillissement et système immunitaire. Chapitre dans le livre: pour une vieillesse autonome. Ed. Pierre Mardaga, Belgique: 77-82.
36. **GOROCHOV G. et PAPO T., 2000–** Immunologie. Ed. Doin, France: 9-214.
37. **GRECO L. et CICCARELLI P., 1994-** Etiopathogénie de la maladie coeliaque. Chapitre dans le livre: alimentation, génétique et santé de l'enfance. Ed. Harmattam: 105-107.
38. **GUALDE N., 1989-** Révision accélérée en immunologie. Ed MALOINE. Paris. France: 25.
39. **GUENARD H., BIOULAC B., BOISSEAU M. R., CARRE F., DEMOTES-MAINARD J., DEVILLIER P., HANOUNE J., HARF A., LACOUR J. R., LAMOUR Y., Le NAOUR R., LEVY B., MARTHAN R., MION F., PAILLARD M., SWYNGHEDAUF B., VARENE P. et VINCENT J. D., 2001-** Physiologie humaine. 3^{ème} Ed Wolters Kluwer, France: 499.
40. **GUINDO A., 2006–** Validation d'une technique ELISA pour l'évaluation de l'immunogénicité en phase Ib du candidat vaccin AMA1-C1/ALHYDROGEL contre le *PLASMODIUM FALCIPARUM* au Mali. Thèse de doctorat de l'Université de Bamako: 58.
41. **HARELY J. P., PRESCOTT L. M., KLEIN D. A., SHERWOOD L. M., WILLEY J. M. et WOOLVERTON C. J., 2010–** Microbiologie. 3^{ème} Ed De Boeck, Bruxelles: 743-782.
42. **HEATH J. W., LOWE J., STEVENS A., WHEATER P. R. et YOUNG B., 2008-** Atlas d'histologie fonctionnelle de Wheater. 5^{ème} Ed De Boeck, Bruxelles: 207-215.
43. **HENDERSON B., ROSSMANN A., MAYERL Ch., WICK M. et WICK G., 2009-** Atherosclerosis—An Age-dependent Autoimmune Disease. Chapitre dans le livre: Handbook on Immunosenescence. Ed. Springer Science+Business Media:1065-1071.
44. **HENNEN G., 1996-** Biochimie humaine : introduction biochimique à la médecine interne. Ed. De Boeck, Bruxelles: 256.

45. **HENRY M. M. et HOMPSON J. N., 2004-** Chirurgie clinique : technique et pratique. Ed. De Boeck Université, Bruxelles: 195.
46. **HOMBERG J. C., 1999-** Immunologie fondamentale :2^e cycle des études de médecine, de pharmacie et.. Ed. Estem, Paris: 7-174.
47. **JANEWAY C. A. et TRAVES P., 2003-** Immunobiologie : le système immunitaire fondamental et pathologique.2^{ème} Ed De Boeck Université, Paris: 480-694.
48. **JOHNSON G. B., LOSOS J. B., RAVEN P. H. et SINGER S. S., 2011–** Biologie. Ed. De .Boeck, Bruxelles: 1058-1085.
49. **KALYUZHNY A. E., 2005-** Handbook of ELISPOT. Ed. Humana Press, New Jersey: 15. **KHAN F. H., 2009-** The Element of Immunology. Ed. Pearson Education, INDIA: 339.
50. **KANIKOWSKA D., SUGENOYA J., SATO M., SHIMIZU Y., INUKAI Y., NISHIMURA N. et IWASE S., 2005-** Influence of season on plasma antidiuretic hormone, angiotensin II, aldosterone and plasma renin activity in young volunteers. *Int J Biometeorol*, vol. 54:243-248.
51. **KIERSZENBAUM A. L., 2006-** Histologie et biologie cellulaire : une introduction à l'anatomie pathologique. Ed. De Boeck Université, Bruxelles: 152-290.
52. **KINDAT T. J., GOLDSBY R. A. et OSBORNE B. A., 2008–** Immunologie : le cours de Janis Kuby avec des questions de révision. 6^{ème} Ed. Dunod, Paris: 156-428.
53. **KUBAB N., HAKAWATI I. et ALAJATI-KUBAB S., 2006–** Guide des examens biologique. Ed. Wolters Kluwer, France: 413-420.
54. **LABESCAT J., 2008-** Les examens complémentaires : Mieux informer ses patients à l'officine. 2^{ème} Ed. Wolters Kluwer, France:16-17.
55. **LACOMBE M., 2007-** Le Lacombe : précis d'anatomie et de physiologie humaine. 29^eEd. Lamarre, France, vol. 2: 82-186.
56. **LAHOUAL N., 2010-** Evaluation de l'antigénicité et de l'allergénicité résiduelle des protéines du lactosérum camelin après la digestion Pepsique/Trypsique. Mémoire de magister de l'université Oran Es-sénia : 40.
57. **LEBWOHL M. G., 2004-** Peau et maladies systémiques. Ed. Elsevier SAS, France: 4.
58. **LEGER J., 2010-**Pathologie auto-immune thyroïdienne. *Archives de Pédiatrie*, vol.17:595-596.
59. **LEPOIVRE P., 2003–** Phytopathologie. 1^{er} Ed. De Boeck, Bruxelles: 223-383.
60. **LEROUEIL-LE VERGER M., VAILLANT D., NICOLAS A. et BERTRAND A., 1996-** Evaluation analytique du dosage des anticorps anti-récepteurs de la TSH par la trousse TrabTM. *Immunoanal Biol Sp*,Vol. 11:196-207.
61. **LETONTURIER P., 2007-** Immunologie générale. Ed. Elsevier Masson. France: 33-40.
62. **LODISH H. F., BALTIMORE., BERK A., ZIPURSKY., MATSUDAIRA P. et DARNELL., 1997-** Biologie moléculaire de la cellule.1^{er} Ed. De Boeck Université, Bruxelles: 1335.

63. **LYDYARD P. M., WHELAN A. et FANGER M. W., 2002-** L'essentiel en Immunologie. Ed. Berti. Paris: 13-24.
64. **MALE D., 2005-** Immunologie : Aide-mémoire illustré. 3^{ème} Ed. De Boeck Université, Bruxelles: 4-115.
65. **MARSAUDON E., 2004-** 200 questions-clés sur le diabète. Ed. Ellebore, Paris: 42.
66. **MARTIN C., RIOU B. et VALLET B., 2006-** Physiologie Humaine Appliquée. Ed. Arnette-Wolters Kluwer, France: 912.
67. **MAYER A. et ORGIAEEI J., 2000-** Auto-immunité et thyroïde. Encycl. Méd. Chir. (Edition scientifique et médicale Elsevier SAS, Paris). Endocrinologie-Nutrition. 10-002-G-10: 13.
68. **MENKES C. J., ALLANORE Y., GIRAUDET- LE QUINTREC J. S., HILLIQUIN P., JUDET H., KAHAN A., PUECHAL X. et TUBIANA R., 2004-** La polyarthrite rhumatoïde de l'adulte. Ed. Masson, Paris: 11.
69. **MEUNIER M., BAZELI R., FEYDY A., DRAPE J. L., KAHAN A. et ALLANORE Y., 2012-** Involution thymique incomplète dans la sclérodermie systémique et la polyarthrite rhumatoïde. *Revue du rhumatisme*, vol. 79: 541-544.
70. **Meyer O., 2005-** Lupus érythémateux systémique. EMC-Rhumatologie Orthopédie, vol. 2: 1-32.
71. **MODIGLIANI E., COHEN R. et LEGRAND M., 1998-** Pathologie thyroïdienne en pratique courante. Ed. Doin, France: 11-12.
72. **MOLINA C., 1995-** Allergie à l'aube du 3^e millénaire. Ed. John Libbey Eurotext, Montrouge: 76.
73. **MUSSET L., 2009-** Auto-immunité et analyse luminex. 14^{es} journées de l'internat des hôpitaux de paris Île-de-France : Maladie d'Alzheimer, accident vasculaires cérébraux, protéomique, métabolomique. Ed. John Libbey Eurotext, Paris: 72.
74. **NEUBURGER L. M., 2006-** Développement de dosages immunologiques par fluorescence (perspectives pour l'élaboration d'un capteur en flux des agents de la menace). Thèse de doctorat de l'institut National Agronomique Paris-Grignon : 17.
75. **NGUYEN S. H. et BOUROUINA R., 2008-** Manuel d'anatomie et de physiologie. Ed. Lamarre, France: 183-201.
76. **NICOLAS J. F., THIOVOLET J. et GOULON C., 2001-** Les urticaires : de la clinique à la thérapeutique. Ed. John Libbey Eurotext, Paris:31.
77. **ORSINI J. C. et PELLET J., 2005-** Introduction biologique à la psychologie. 2^{ème} Ed. Bréal, Paris: 515.
78. **PARHAM P., 2003-** Le système immunitaire. Ed. De Boeck, Paris: 7.
79. **PONCELET C. et SIFER C., 2011-** Physiologie, pathologie et thérapie de la reproduction chez l'humain. Ed. Springer, Paris: 99.

80. **PONVERT C., PAUPE J. et GRISCELLI C., 1991-** Immunologie fondamentale et immunopathologie. 2^{ème} Ed. Ellipses, France : 279-304.
81. **PRESCOTT L. M., HARELY J. P. et KLEIN D. A., 2003-** Microbiologie. 2^{ème} Ed. De Boeck Université, Bruxelles: 726-756.
82. **PREUD'HOMME J. L., SOMOGYI A., BLETRY O., ARNOUX D., ARVIEUX J. et SANMARCO M., 2001-** syndrome des anti-phospholipides. *Le cahier de formation biologie médicale*, N° 22. Ed. Bioforma, Paris: 34-66.
83. **PRUGNOLLE H. et THOREAU F., 1996-** Histologie. Ed. Estem, Paris: 34.
84. **REVILLARD J. P., 2001-** Immunologie. Ed. De Boeck Université, Bruxelles: 140-453.
85. **ROITT I. M., BROSTOFF J. et MALE D. K., 2002-** Immunologie. Ed. De Boeck, Bruxelles: 423-432.
86. **ROSEN F. S. et GEHA R. S., 2010-** Cas cliniques en immunologie. Ed. De Boeck, Bruxelles: 246.
87. **ROUESSAC F., ROUESSAC A. et CRUCHE D., 2004-** Analyse chimique : Méthodes et techniques instrumentales modernes. 6^{ème} Ed. Dunod, Paris: 363.
88. **RUFFIE J., 1993-** Naissance de la médecine prédictive. Ed. Odile Jacob, Paris: 359.
89. **SCHAECHTER M., MEDOFF G. et EISENSTEIN B. L., 1999-** Microbiologie et pathologie infectieuse. 2^{ème} Ed. De Boeck, Bruxelles:120-135.
90. **SEBAHOUM G., 2005-** Hématologie clinique et biologique. 2^{ème} Ed. Arnette, France: 249-452.
91. **SEIGNALET J., 2004-** L'Alimentation ou la troisième médecine. 5^{ème} Ed. Office d'Édition Impression Librairie (O.E.I.L.) François-Xavier de Guibert, France: 149.
92. **SHARMA B. S., BUREK C. L., CIHAKOVA D., NJOKU D. B et NOEL R. ROSE., 2010-** Environmental Factors in Autoimmune Endocrinopathies. Chapitre dans le livre: autoimmune diseases endocrinology. Ed. Springer, 35-75.
93. **SHERWOOD S., 2006-** Physiologie humaines : A Human Perspective. 2^{ème} Ed. De Boeck Université, Bruxelles: 326-337.
94. **SHOLTIS BRUNNER L. et SMITH SUDDARTH D., 2006-** Soins infirmiers en médecine et en chirurgie : 2.Fonctions respiratoire, cardiovasculaire et hématologique. Ed. De Boeck Université, Bruxelles: 510.
95. **STEVENS A. et LOWE J., 1997-** Histologie humaine. 2^{ème} Ed. De Boeck, Bruxelles: 134.
96. **STEVENS A., LOWE J. et YOUNG B., 2004-** Anatomie pathologique. 1^{er} Ed. De Boeck Université, Bruxelles: 185.
97. **SWYNGHEDAUW B., 2009-** Les conséquences médicales de réchauffement climatique. *Presse Med*, vol. 38: 551-561.
98. **TALAGAS M. et LEDUC J., 2007-** Module 8: immunopathologie, Réaction inflammatoire. Ed. Estem, France: 82p.

99. **Tiberti C., Bao F., Bonamico M., Verrienti A., Picarelli A., Di Tola M., Ferri M., Vecci E., Dotta F., Eisenbarth G. S. et Di Mario U., 2003-** Celiac disease-associated transglutaminase autoantibody target domains at diagnosis are age and sex dependent. *Clinical Immunology*, vol. 109: 318-324.
100. **VAISERMAN M., VOITENKO V. P., TRON'KO N. D., KRAVCHENKO V. I., KHALANGOT N. D., MEKHOVA L. V. et GUR'YANOV V. G., 2006-** Role of Seasonal Factors in Pre- and Postnatal Ontogenesis in Etiology of Type 1 Diabetes Mellitus. *Russian Journal of Developmental Biology*, Vol. 37, N° 4: 230–236.
101. **VALDIGUIE P., De La FARGE F., SOLERA M. L., LAGENTE M., De GRAEVE J., THIERRY L., DUPLANTIER E. et DOMINGUEZ D., 2000-** Biochimie clinique. 2^{ème} Ed. EM inter: 230.
102. **VAUBOURDOLLE M., 2007-** Infectiologie. 3^{ème} Ed. Wolters Kluwer, France: 170-814.
103. **VOET D. et VOET J. G., 2005–** Biochimie. Ed. De Boeck, Bruxelles: 130.
104. **VOSKUHL R., 2011-** Sex differences in autoimmune diseases. Voskuhl Biology of Sex Differences. *BioMed. Central*, vol. 2:1-21.
105. **WEILL B. et BATTEUX F., 2003-** Immunopathologie et réactions inflammatoires. 1^{er} Ed. De Boeck, Bruxelles: 90-119.
106. **WHEATER P. R., YOUNG B. et HEATH J. W., 2001-** Histologie fonctionnelle. 4^{ème} Ed. De Boeck, Bruxelles: 195-206.

Sites web

Site web1: www.biomerieux.com

Site web2: www.tosohbioscience.eu

Annexes

Annexes

Annexe 1 : Principaux acteurs humoraux et cellulaires de l'immunité naturelle ou spécifique (BOUREE *et al.*, 2002).

	Humorale	Cellulaire
Immunité naturelle (non spécifique)	Lysozyme Complément Interférons	Phagocytes (macrophages et polynucléaires) Cellules NK
Immunité spécifique (à mémoire)	Anticorps (sécrétés par lymphocytes B)	Lymphocytes T (régulateurs ou cytotoxiques)

Annexe 2 : Répartition des cas des recherches des AAc selon le sexe.

Sexe	Nombre de cas total	Pourcentage
Féminin	601	77.75%
Masculin	172	22.25%
Total	773	100.00%

Annexe 3 : Répartition des cas des recherches des AAc selon la saison.

Saison	Nombre de cas total	pourcentage
Automne	191	24.71%
Hiver	158	20.44%
Printemps	237	30.66%
Été	187	24.19%
Total	773	100.00%

Annexe 4 : Analyse de la liaison entre deux variables qualitatives.

La mesure de la liaison entre X et Y se traduit par le calcul de la distance d^2 du Chi2 selon la loi suivant :

$$d^2 = \sum_{i,j} \frac{\left(n_{ij} - \frac{n_i \cdot n_j}{n} \right)^2}{\frac{n_i \cdot n_j}{n}}$$

Donc :

- Si $d^2 = 0$, il y a indépendance.
- Au plus d^2 est grand, au plus les variables sont liées, sa valeur maximal est le minimum de $n(k-1)$ et $n(l-1)$.

Alors :

	selon l'âge	Selon le sexe	Selon la saison
d^2	277.431682	43.23824415	57.3460254
Min $n(k-1)$ et $n(l-1)$.	2658	433	1329

Résumé:

Pour savoir l'importance de la technique ELISA, notamment dans le diagnostic des maladies auto-immunes qui sont les résultats de la rupture des processus de tolérance protégeant l'hôte contre l'action des lymphocytes auto-réactifs, nous avons effectué cette étude au niveau de laboratoire IBN ROCHD dans la région de Ghardaïa. L'étude touche 773 cas de diagnostic des maladies auto-immunes enregistrés durant l'année 2011. Les auto-anticorps ont été recherchés dans des échantillons de sang des patient par la technique ELISA en utilisant deux appareils VIDAS et TOSOH. Dans un total de 773 cas étudiés, 440 cas sont positifs avec un pourcentage qui dépasse la moitié (56,92%), dont la plupart des cas sont des femmes (82,73%) d'âge moyen de 30 ans (41,14%). Les tests de la recherche des auto-anticorps ont été très demandés en printemps (32,27%).

Mots clés : Auto-anticorps, diagnostic, ELISA, maladies auto-immunes, Ghardaïa, IBN ROCHD.

المخلص:

لمعرفة أهمية ELISA، خصوصا في تشخيص أمراض المناعة الذاتية التي تنتج عن انهيار عملية التسامح التي تحمي المضيف ضد عمل الخلايا الليمفاوية ذاتية التفاعل، أجرينا هذه الدراسة في مختبر ابن رشد في منطقة غرداية. الدراسة شملت 773 حالة من حالات تشخيص أمراض المناعة الذاتية التي سجلت خلال عام 2011. وقد تم البحث عن الأجسام المضادة الذاتية في عينات دم المرضى بواسطة تقنية ELISA و ذلك باستخدام نوعين من الأجهزة TOSOH و VIDAS. فيما مجموعه 773 من الحالات التي تمت دراستها، 440 كانت حالات إيجابية مع نسبة تتجاوز النصف (56.92%)، ومعظم الحالات من النساء (82.73%) بمتوسط عمر 30 سنة (41.14%)، ويرتفع الطلب على اختبار الأجسام المضادة الذاتية في فصل الربيع (32.27%).

الكلمات الدالة: الأجسام المضادة الذاتية، التشخيص، ELISA، أمراض المناعة الذاتية، غرداية، ابن رشد.

Abstract:

To know the importance of ELISA, especially in the diagnosis of autoimmune diseases which are the result of the breakdown of tolerance process protecting the host against the action of self-reactive lymphocytes. We effectuated this study at IBN ROCHD laboratory in the region of Ghardaïa. The study was affected 773 cases of autoimmune disease diagnosis enregistred during 2011. Autoantibodies were investigated in blood samples of patients by ELISA using tow machines VIDAS and TOSOH. In a total of 773 studied cases, 440 cases were positive with a percentage that exceeds half (56.92%), most cases are women (82.73%) with a mean age of 30 years (41.14%). The researches of antibodies were in high demand in spring (32.27%).

Keywords: Autoantibodies, diagnosis, ELISA, autoimmune diseases, Ghardaïa, IBN ROCHD.