

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de L'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Mouloud Mammeri Tizi-Ouzou

Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques

Département Biochimie-Microbiologie



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de

Master

Domaine : SNV

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie Appliquée

Thème

Intérêts et limites de l'utilisation de la technique ELISA dans la recherche d'auto-anticorps anti-nucléaires dans le diagnostic des connectivites.

Réalisé par :

BENABBOU NADJIB

BOUKERROUCHE SAMIRA

SALMI HANANE

Devant le jury composé de :

Présidente M^{me} BOUGUENOUN I. MCB UMMTO

Promotrice M^{me}TALEB ep.AIT MENGUELLET K. MCA UMMTO

Co-promoteur Dr TOUDERT A. Professeur CHU /TO

Examinatrice M^{me} AMROUN T.T. MCB UMMTO

Année universitaire
2021/2022



Remerciements

Dieu tout puissant, merci de nous avoir donné le courage, la force, la patience et la détermination d'accomplir ce modeste travail.

Nous remercions vivement notre promotrice **M^{me} TALEB -ep.AIT MENGUELLET.K.** maître de conférence de classe A en immunologie à la faculté des sciences biologiques et agronomiques UMMTO, pour l'honneur qu'elle nous a accordé d'accepter de nous encadrer et pour sa collaboration à la réalisation de notre travail.

Nos remerciements les plus sincères s'adressent aussi à notre co-promoteur **Dr TOUDERT.A.** chef de service d'immunologie au CHU Nedir Mohamed de Tizi-Ouzou, pour nous avoir suivi et guidé pendant toute la durée du travail.

Nous tenons à remercier **M^{me} BOUGUENOUN.I.** maître de conférence de classe B à l'UMMTO pour avoir accepté de présider le jury.

Merci également à **M^{me} AMROUN. T.T.** maître de conférence de classe B à l'UMMTO pour avoir accepté d'examiner notre travail.

Nos remerciements s'adressent également à l'ensemble du personnel du service d'immunologie CHU Nedir Mohamed Tizi-Ouzou.

Nous adressons également nos remerciements à nos enseignants de la faculté des sciences biologiques et sciences agronomiques : **Mr Zazi.A, M^{me} Rouibette.O, M^{me} Taleb-toudert .K, M^{me} Lerdjane.N, M^{me} Harchaoui, M^{me} Senani, M^{me} Bedouhene et Mr Titouche.Y.**

Nos remerciements aussi au doyen de la faculté **Mr Metahri.M.S.**

Dédicaces



Je dédie ce modeste travail

A mes parents qui m'ont soutenu et m'ont encouragé durant mon parcours d'études ; Malgré que nulle dédicace ne puisse exprimer. Qu'ils trouvent ici le témoignage de ma profonde reconnaissance :

*A mon cher père **Rachid**, pour ses encouragements, son soutien et son sacrifice, qui s'est changé la nuit en jour afin que rien n'entrave les déroulements de mes études ;*

*A ma chère mère **Ourida**, qui a attendu avec patience les fruits de sa bonne éducation et de ses dévouements et qui n'a jamais cessé de prier pour moi ;*

*A mes deux meilleures enseignantes de CEM **M^{me} Zabchi** et **M^{me} Oukara** pour leurs soutien et leurs encouragement continus ;*

*A mon cher magnifique binôme **Hanane** et **Samira** avec qui j'ai partagé tous les moments d'émotion lors de la réalisation de ce travail, et qui m'ont chaleureusement supporté et encouragé tout au long de mon parcours*

Enfin à toute personne qui a participé de près ou de loin à l'accomplissement de ce mémoire ;

Nadjib

Dédicaces

Avant tout, je remercie le Bon Dieu de m'avoir donné la chance d'étudier, la santé, la force, la volonté et la patience pour mener à bien ce travail ;

Avec joie, fierté et honneur que je dédie ce modeste travail :

A ma très chère maman « Malika » qui m'a encouragé durant toutes mes études, et qui sans elle, ma réussite n'aura pas eu lieu ;

A mon très cher PAPA « Mohamed » qui est toujours disponible pour nous, et prête à nous aider, je lui confirme mon attachement et mon profond respect ;

A mes frères, Rachid, Farid et Yanis ;

A mes sœurs, Ghenima, Katia, Lyliá, Fatíha et Celina ;

A tout la famille BOUKERROUCHE ;

A toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

A mes deux binômes Nadjib et Hanane, pour leur soutien, leurs encouragements et avec qui j'ai partagé pleins de bons moments durant la réalisation de ce mémoire.

SAMIRA

Dédicaces

Au terme de ce travail je remercie Mon dieu le tout puissant de m'avoir donné le courage ; la santé ; la force ; la patience et m'a accordé son soutien durant les périodes les plus difficiles.

A mes très chers parents Hacén et Ouzena sur qui j'ai pu compter et une ressource d'affection et bénédictions durant toute ma vie et de me soutenir toute au long de mes études je leur souhaite toute le bonheur et la santé.

A mes très chères sœurs Fariza; Nawal; Kahina ; Thanina qui m'ont soutenue et encourager je leurs souhaite tout le bonheur du monde et la santé.

A mes frères Idir; Samir; Nadir ; Nacer ; Karim je leurs souhaite toute le bonheur du le monde et la santé.

A toute la famille SALMI.

A mon très cher binôme et amis fidèle Nadjib et Samira qui m'a soutenu j'ai partagé des moments inoubliables pendant et dehors du travail.

HANANE

Introduction 1

Partie Bibliographique

Chapitre I : les Connectivites

1 Connectivites 2

1.1 Définition 2

1.2 Facteurs de risques 2

1.2.1 Facteurs génétiques 2

1.2.2 Facteurs environnementaux 2

1.2.2.1 Microorganismes(MO) 2

1.2.2.2 Facteurs physicochimiques 3

1.2.3 Facteurs immunologiques 3

1.3 Classification des connectivites 4

1.3.1 Lupus érythémateux systémique (LES) 4

1.3.1.1 Aspects cliniques: 4

1.3.1.2 Epidémiologie 5

1.3.1.3 Physiopathologie 5

1.3.1.4 Traitements 6

1.3.2 Syndrome de Gougerot-Sjögren (SGS) 6

1.3.2.1 Aspects cliniques 7

1.3.2.2 Epidémiologie 7

1.3.2.3 Physiopathologie 7

1.3.2.4 Traitements 8

1.3.3	Polyarthrite Rhumatoïde(PR)	8
1.3.3.1	Aspects cliniques	8
1.3.3.2	Epidémiologie	9
1.3.3.3	Physiopathologie	9
1.3.3.4	Traitements	10
1.3.4	Polymyosite (PM)	10
1.3.4.1	Aspects cliniques	10
1.3.4.2	Epidémiologie	10
1.3.4.3	Physiopathologie	10
1.3.4.4	Traitements	10
1.3.5	Sclérodermie systémique (ScS)	11
1.3.5.1	Aspects cliniques	11
1.3.5.2	Epidémiologie	11
1.3.5.3	Physiopathologie	11
1.3.5.4	Traitements	13
1.3.6	Connectivite mixte (Mixed Connective Tissue Disease MCTD)	13
1.3.6.1	Aspects cliniques	14
1.3.6.2	Epidémiologie	14
1.3.6.3	Physiopathologie	14
1.3.6.4	Traitements	14

Chapitre II: Les Auto-anticorps et les Auto-antigènes

2	Anticorps antinucléaires AAN	15
2.1	Définition	15
2.2	Catégories des auto-anticorps AAN	15
2.2.1	Anticorps anti-antigènes nucléaires insolubles(DNA)	15
2.2.1.1	Anticorps anti-ADN natif (dsDNA)	15
2.2.1.2	Anticorps anti-histones	15
2.2.1.3	Anticorps anti-nucléosome	15
2.2.2	Anticorps anti-antigènes nucléaires solubles(ENA)	16
2.2.2.1	Anticorps anti-nucléo protéine (anti-RNP).....	16
2.2.2.2	Anticorps Anti-Smith (anti-Sm)	16
2.2.2.3	Anticorps anti-Ro/SSA (Ro60)	16
2.2.2.4	Anticorps Anti-La/SSB	16
2.2.2.5	Anticorps anti-Scl70	16
2.2.2.6	Anticorps anti-centromère(ACA)	16
2.3	Production des AAN	17
2.4	Structure des AAN	17
2.5	Rôles des AAN	17
3	Auto-antigènes	17

Chapitre III: Techniques de Diagnostic des Connectivites

4	Immunofluorescence indirecte (IFI)	20
4.1	Principe de l'immunofluorescence indirecte (IFI)	20
4.2	Avantages et inconvénients de L'IFI	21
5	ELISA	21
5.1	Principe de technique ELISA	21
5.2	Avantages et inconvénients de la technique ELISA	22

Partie Expérimentale:

1	Informations sur l'étude	23
1.1	Type et lieu de l'étude	23
1.2	Population de l'étude	23
2	Matériels utilisés	23
2.1	Appareillage	23
2.2	Réactifs	26
3	Méthodes	27
3.1	Etape de screening : technique ELISA appliquée au dépistage des AAN.....	28
3.2	Identification des Anticorps anti-antigènes nucléaires solubles ENA6	31
1	Etude rétrospective	34
1.1	Incidence des connectivites dans le service d'Immunologie au CHU de Tizi-Ouzou	34
1.1.1	Analyse descriptive des données civiles selon signes clinique	35
1.1.1.1	Répartition des patients selon la tranche d'âge	35
1.1.1.2	Répartition des patients selon le sexe	36

1.1.1.3 Répartition selon type de connectivite.....	37
1.1.1.4 Répartition selon les cas positifs et négatifs	38
2 Etude prospective	40
2.1 Répartition des patients étudiés dans notre série	41
2.1.1 Selon l'Age.....	41
2.1.2 Selon le sexe	42
2.1.3 Selon la positivité : femmes et hommes.....	43
2.1.4 Selon le type de connectivites	44
2.1.5 Répartition selon les cas positifs et négatifs :	45
3 Répartition des patients selon leur profil en ANA	47
4 Répartition des patients selon leur profil en anticorps anti-DNA natif	47
5 Répartition des patients selon leur profil en anticorps anti-antigènes	47
Discussion	49
Conclusion.....	53
Références bibliographiques	54

Annexes

Résumé

Figure 1: Les différents facteurs impliqués dans les maladies auto-immunes.....	3
Figure 2: Eruptions cutanées au visage provoquées par lupus Erythémateux systémique.	4
Figure 3: Schéma récapitulatif de la physiopathologie de lupus Erythémateux systémique	6
Figure 4: Xérophtalmie.	7
Figure 5: Xérostomie.	7
Figure 6: Schéma récapitulatif de la physiopathologie du syndrome Gougerot Sjögren.....	8
Figure 7: Atteintes articulaires au cours de la polyarthrite Rhumatoïde.....	9
Figure 8: Le phénomène de Raynaud.....	11
Figure 9: Les différents éléments de la boucle d'amplification de la physiopathologie de la sclérodémie Systémique.....	12
Figure 10: Schéma récapitulatif de la physiopathologie de la sclérodémie systémique.....	13
Figure 11 : Principe de la technique d'immunofluorescence indirecte.....	20
Figure 12: Principe de la technique ELISA	22
Figure 13: Les constituants de la chaîne ELISA.....	25
Figure 14: Les étapes de la recherche des AAN pour le dépistage des connectivites.....	28
Figure 15: Microplaque ELISA à puits recouverts d'antigènes ADN db.	30
Figure 16 : Courbe de calibration obtenue lors d'un test ELISA anti ADNdb.	31
Figure 17: Microplaque ELISA à puits recouverts d'antigènes ENA6.....	32
Figure 18: Répartition des patients selon la positivité et la négativité d'après le test ELISA..	34
Figure 19: Répartition des patients en fonction d'Âge (selon signe clinique connectivite+)..	36
Figure 20: Cercle relativiste représente la répartition des patients selon le sexe.....	37
Figure 21: Histogramme représente la répartition des patients selon le type de connectivites.	38
Figure 22 : Cercle relativiste représente la répartition des Femmes négatives et positives. ...	39
Figure 23 : Cercle relativiste représente la répartition des Hommes négatifs et positifs.	40
Figure 24: Répartition des patients selon la positivité et la négativité d'après le test ELISA.	41
Figure 25: Histogramme représente les fréquences des patients en fonction d'âge.....	42
Figure 26 : Cercle relativiste représente la répartition des patients selon le sexe.....	43
Figure 27 : Cercle relativiste représente la répartition des patients selon la positivité.	44
Figure 28 : Histogramme représente la répartition des patients selon le type de connectivites.	45
Figure 29: Cercle relativiste représente la répartition des femmes positives et négatives.	46
Figure 30: Cercle relativiste représente la répartition des hommes négatifs et positifs.....	46

Tableau I: Les caractéristiques et les fonctions biologiques des auto-antigènes.....	17
Tableau II: Les avantages et les inconvénients de la technique d'immunofluorescence indirecte.....	21
Tableau III: Les avantages et les inconvénients de la technique ELISA.	22
Tableau IV: Répartition des réactifs dans les coffrets ELISA.....	26
Tableau V: Interprétation des titres des anticorps anti-nucléaires obtenus.....	29
Tableau VI: Interprétation des titres des anticorps anti- ADN db obtenus.....	31
Tableau VII: Interprétation des titres des anticorps anti- ENA obtenus.	33
Tableau VIII: Répartition des patients selon la positivité et la négativité d'après le test ELISA.....	34
Tableau IX: Répartition des patients selon les tranches d'âge.	35
Tableau X: Répartition des patients selon le sexe.	36
Tableau XI: Répartition de patients selon le type de connectivites.....	37
Tableau XII : Répartition des femmes selon la positivité et la négativité.....	38
Tableau XIII: Répartition des hommes selon la positivité et la négativité.	39
Tableau XIV: Répartition des patients selon la positivité et la négativité d'après le test ELISA.....	40
Tableau XV: Répartition des patients selon les tranches d'âge.....	41
Tableau XVI: Répartition des patients selon le sexe.....	42
Tableau XVII : Répartition des patients selon la positivité.....	43
Tableau XVIII : Répartition de patients selon le type de connectivite.	44
Tableau XIX : Répartition des femmes selon la positivité et la négativité.	45
Tableau XX : Répartition des Hommes selon la positivité et la négativité.	46
Tableau XXI : Répartition des patients selon leur profil en ANA.	47
Tableau XXII : Répartitions des patients selon leur profil en anticorps Anti-DNA natif.....	47
Tableau XXIII : Répartitions des patients selon leur profil en anticorps Anti-ENA.	48
Tableau XXIV : Comparaison des fréquences des anticorps anti ENA de notre série avec l'étude canadienne de C.Fitch Rogalsky.	51
Tableau XXV : Les avantages et les inconvénients de la technique ELISA.	52

AAN: Anticorps Anti-Nucléaires.

AC: Anticorps.

ADNdb : Acide Désoxyribonucléique Double Brin.

Ag: Antigène.

ADN : Acide Désoxyribonucléique.

AINS: Anti-Inflammatoires Non Stéroïdiens.

Anti- SSA: Anti-Sjogren's Syndrome A.

Anti-Sm: Anticorps Anti Smith.

Anti-SSB: Anti-Sjogren's Syndrome B.

Anti-Jo-1: Anti-Jo-1 Anticorps Anti-Histidyl-ARN-T Synthétase.

Anti-Rnp: Anti-Ribonucléoprotéines.

Anti-Scl70: Anti Topoisomérase I.

Anti-U1-Rnp: Anti Famille U1 De Rébonucléoprotéines.

Anti-ACA: Anticorps Anti Centromère.

ARN : Acide Ribonucléique.

CI : Complexe Immuns.

CMV : Cytomégalovirus.

CMH: Complexe Majeur D'histocompatibilité.

CPA : Cellule Présentatrice D'antigène.

DC: Cellule Dendritique.

DO : Densité optique.

EBV: Epstein-Barr virus.

ENA: Extractable nuclear antigen (antigène nucléaire extractible).

FAN: Facture Antinucléaire.

FC : Fragment Constant.

FITC : Isothiocyanate De Fluorescéine.

GC: Glucocorticoïdes.

H: Histone.

HLA: Human leukocyte antigen.

HRP: Horse Radish peroxidase.

IFI : Immunofluorescence Indirecte.

IL : Interleukine.

Ig: Immunoglobulines.

IFN: Interféron.

KDa: Kilodalton (unité international pour mesurer le poid moléculaire des protéines).

LB: Lymphocyte B.

LED: Lupus Erythémateux Disséminé.

LES : Lupus Erythémateux Systémique.

LT : Lymphocyte T.

MAI : Maladies Auto Immuns.

MEC : Matrice extracellulaire.

MM P : Métalloprotéinase.

MO : Microorganismes.

nm : Nanomètre.

PCD : Cellule Dendritique Plasmytoide.

PE : Phycoérythrine.

PGE : Prostaglandine.

PR : Polyarthrite Rhumatoïde.

PM : Polymyosite.

PNN : Polynucléaires Neutrophile.

PO : Phycoérythrine.

POP : Polluants Organique Persistants.

RI : Réponse Immunitaire.

RNP : Ribonucléoprotéine.

ScS : Sclérodemie Systémique.

SGS : Syndrome Gougerot Sjogren.

SI : Système Immunitaire.

TLR: Toll-like-receptor.

TMB: Dichlorhydrate de 3,3', 5,5' tétraméthylbenzidine.

TNF: Tumor Necrosis Factor.

TGF: Transforming growth factor(le facteur de croissance transformant).

UE: Unité enzymatique.

UV:Ultra-Violet.

Introduction

Les connectivites sont des maladies auto-immunes chroniques systémiques non spécifiques d'organes. se sont des pathologies inflammatoires qui affectent le tissu conjonctif, une substance organique qui relie entre les différentes cellules de l'organisme. Étant donnée la dissémination de ce tissu et en fonction de l'organe cible, les connectivites sont caractérisées par la multitude des signes cliniques [1].

La principale caractéristique de ces pathologies est la présence d'auto-anticorps antinucléaires (AAN) dirigés contre les auto-antigènes. Chaque auto-anticorps est spécifique d'un auto-antigène, qui lui-même est spécifique d'une maladie possédant ses propres aspects cliniques. La détection de ces auto-anticorps avec une sensibilité et une spécificité élevée constitue la base de l'exploration immunologique des connectivites [2].

Pour faciliter le diagnostic des connectivites ,diverses techniques de détection ont été développées, à savoir l'immunofluorescence indirecte (IFI) [3] et l'ELISA [4] [5].

Quel que soit la technique utilisée, l'exploration immunologique des connectivites se déroule en deux étapes primordiales: la première est une étape dite de screening qui consiste on la recherche de positivité et la seconde est une étape d'identification des antigènes, qui dépend exclusivement de la première étape [6].

L'incohérence entre les résultats fournis par les différentes techniques utilisées et les valeurs de références est une vraie problématique qui remet en doute la fiabilité et la crédibilité des techniques [7].

Ainsi, nous avons réalisé une étude pour mettre en évidence les avantages et inconvénients de l'utilisation de la technique ELISA dans l'exploration immunologique des connectivites. En effet, cette étude a été initiée au niveau du laboratoire d'Immunologie du CHU de Tizi-Ouzou sur des sérums de patients présentant des symptômes de ces pathologies. Aussi l'objectif de notre étude est de vérifier l'aptitude et la suffisance de cette technique à fournir des résultats concrets et fiables au cours de l'exploration immunologique des connectivites.

Dans ce cadre, notre travail est subdivisé en deux parties principale ; la première partie porte sur une synthèse bibliographique réalisé en trois chapitres dont :

Les connectivites , Les autos-anticorps et les auto-antigènes et en dernier lieu les techniques de diagnostic des connectivites sont présentées.

La deuxième partie dite expérimentale est dédiée sur une étude rétrospective et prospective des connectivites.

Enfin notre étude est finalisé par une conclusion qui permettra d'ouvrir la voie sur d'autres recherches à ce travail.

Partie
Bibliographique

Chapitre I
Généralités sur les connectivites

Les maladies auto-immunes (MAI) sont des maladies chroniques multifactorielles, qui résultent de l'auto-immunité [8]. Cette dernière est un dysfonctionnement résultant d'un défaut dans la mise en place de la tolérance au soi, provoquant une action pathogène du système immunitaire (SI) vis-à-vis de ses propres constituants [9]. La principale caractéristique de ces maladies est la production d'auto-anticorps spécifiques d'auto-antigènes [10]. Elles sont classées en deux groupes distincts : les MAI spécifiques et non spécifiques d'organes dites également systémiques [11]. Derrière le cancer et les maladies cardiovasculaires, les MAI constituent la troisième cause de morbidité avec une prévalence de 5% [12].

1 Connectivites

1.1 Définition

Anciennement elles sont connues sous le terme de collagénose [13]. En effet, ces dernières regroupant un ensemble hétérogène de MAI non spécifiques d'organes liées à un endommagement immunologique et inflammatoire du tissu conjonctif [14].

1.2 Facteurs de risques

L'origine des MAI est probablement due à une association entre des facteurs environnementaux, immunologiques et génétiques (**Figure 1**) [15].

1.2.1 Facteurs génétiques

Plusieurs gènes peuvent contribuer au développement des MAI tels que :

- Gènes du système du CMH [8]: l'implication de ces gènes est souvent rencontrée et peut s'expliquer par le fait que certains allèles HLA ont la capacité particulière de présenter des auto-antigènes aux Lymphocytes T [10].
- Les polymorphismes des gènes codant des cytokines [16], ou des récepteurs au Fragments constants (FC) des immunoglobulines (Ig) [17].

1.2.2 Facteurs environnementaux

1.2.2.1 Microorganismes (MO)

Plusieurs MO sont incriminés en particulier les virus ; à savoir le cytomégalovirus (CMV) et l'Epstein-Barr virus (EBV), qui sont aptes à stimuler la production des anticorps anti-nucléaires (AAN) par le biais de la modification des réponses immunitaires (RI). C'est le cas de l'EBV, qui est structurellement similaire avec les auto-antigènes SSA et Sm [19].

1.2.2.2 Facteurs physicochimiques :

- Les radiations UV : exclusivement dans le cas des patients atteints de lupus [15].
- Le stress : au cours de stress, des phénomènes intracellulaires induisant une modification de l'équilibre cytokiniques via une stimulation de l'immunité humorale et une inhibition de l'immunité cellulaire [20].
- Le tabac : principalement la cigarette, lors de l'exposition accru à la fumée des cigarettes le risque de développer une MAI augmente. En effet, ce dernier exerce un effet pro-inflammatoire [21].
- Certains médicaments [22].

1.2.3 Facteurs immunologiques

- Une hyper activation polyclonale des LBs responsables d'une augmentation des cellules sécrétrices d'anticorps [23].
- Une résistance à l'anergie et à l'apoptose, qui est due à des anomalies de signalisation intracellulaire des LTs [15].
- Des anomalies du réseau cytokinique avec une surexpression de l'interféron de type I et une diminution de la production d'interleukine (IL2) [24] [25] (**Figure1**)

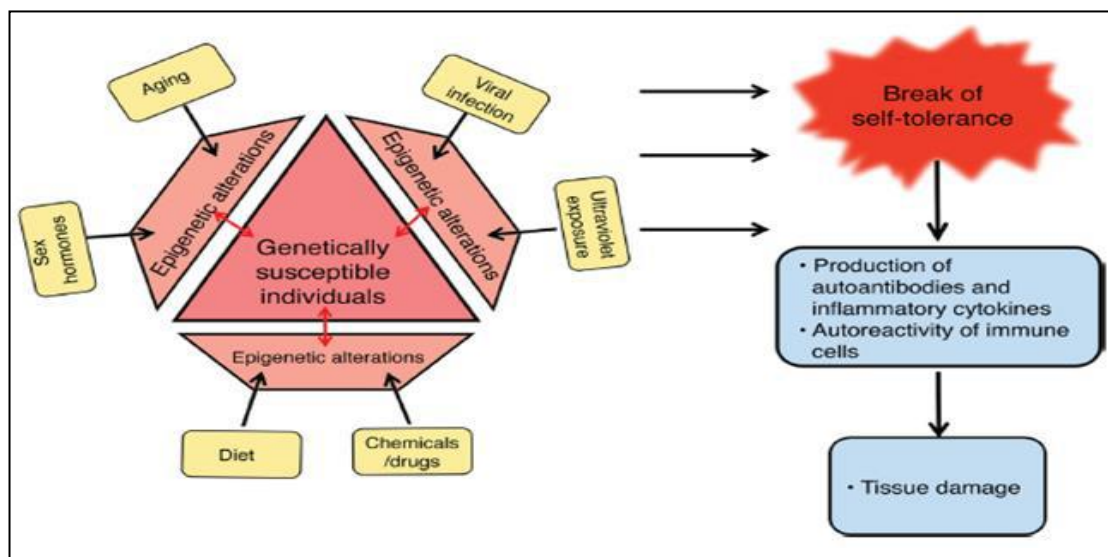


Figure 1: Les différents facteurs impliqués dans les maladies auto-immunes [25].

1.3 Classification des connectivites

1.3.1 Lupus érythémateux systémique (LES)

Etymologiquement, il représente l'ensemble de lésions cutanées sous forme de morsure de loup qui touche le visage au niveau des joues, du nez et du front [26].

Le LES est une MAI non spécifique d'organe. C'est une pathologie inflammatoire chronique [27], qui peut affecter nombreux organes avec des manifestations différentes d'une personne à une autre, en fonction de l'âge et le stade d'évolution de la maladie. Elle est de ce fait appelée lupus érythémateux disséminé (LED). Cette maladie est caractérisée par l'alternance d'une période de poussées symptomatique avec une période de rémissions [8]. Une importante production des divers types d'anticorps contre les constituants de noyau principalement contre l'ADN natif et les nucléosomes a été rapportée [8].

1.3.1.1 Aspects cliniques:

Plusieurs signes cliniques caractérisent le LES parmi eux on distingue:

- Des éruptions cutanées au visage avec une couleur rouge (**Figure2**) [28].
- La fatigue et la fièvre, parfois accompagnées par une perte de poids [29].



Figure 2: Eruptions cutanées au visage provoquées par lupus érythémateux systémique [30].

1.3.1.2 Epidémiologie

Le LES est une maladie ubiquitaire qui affecte préférentiellement les femmes jeunes en âge de procréer dans la quasi-totalité des cas .L'âge de début de la pathologie se situe entre 16 et 45 ans [31],avec un sex-ratio 9femmes contre 1homme [32].

1.3.1.3 Physiopathologie

Elle peut se résumer en cinq étapes clés

1- Une exposition anormale des antigènes apoptotiques due à une accumulation excessive des corps apoptotiques. Ce taux anormalement élevé est dû à une accumulation dans l'organisme ou bien à une diminution de la clairance. Une rupture de la tolérance est de ce fait observée avec une production d'auto-anticorps par les LB auto-réactifs.

2- Formation des complexes immuns (CI) Ag-Ac suite à la fixation de chaque Ac sur son Ag spécifique aussi bien dans la circulation sanguine que dans les tissus.

3- L'activation de la voie classique du complément (C1q) par les complexes immuns.

4- La cascade du complément libère plusieurs molécules dont le rôle est de recruter divers types cellulaires dont les polynucléaires(PNN), les cellules dendritiques (DC), les macrophages et les lymphocytes, responsables d'une inflammation tissulaire.

5- L'activation des DC plasmatoïdes (pCD) par les CI par le biais de récepteurs de type TLR (Toll-like receptors) et les récepteurs au fragment Fc des immunoglobulines(Ig), induisant la libération des cytokines pro-inflammatoire comme l'interféron alpha (IFN- α), le TNF (Tumor Necrosis Factor) et de l'interleukine 8 (IL-8), qui vont stimuler la présentation des auto-antigènes apoptotiques aux LT. Ainsi, la production des auto-anticorps qui vont se lier aux auto-antigènes de cellules apoptotiques seront responsables d'une inflammation et une lésion tissulaires [33] (**Figure3**).

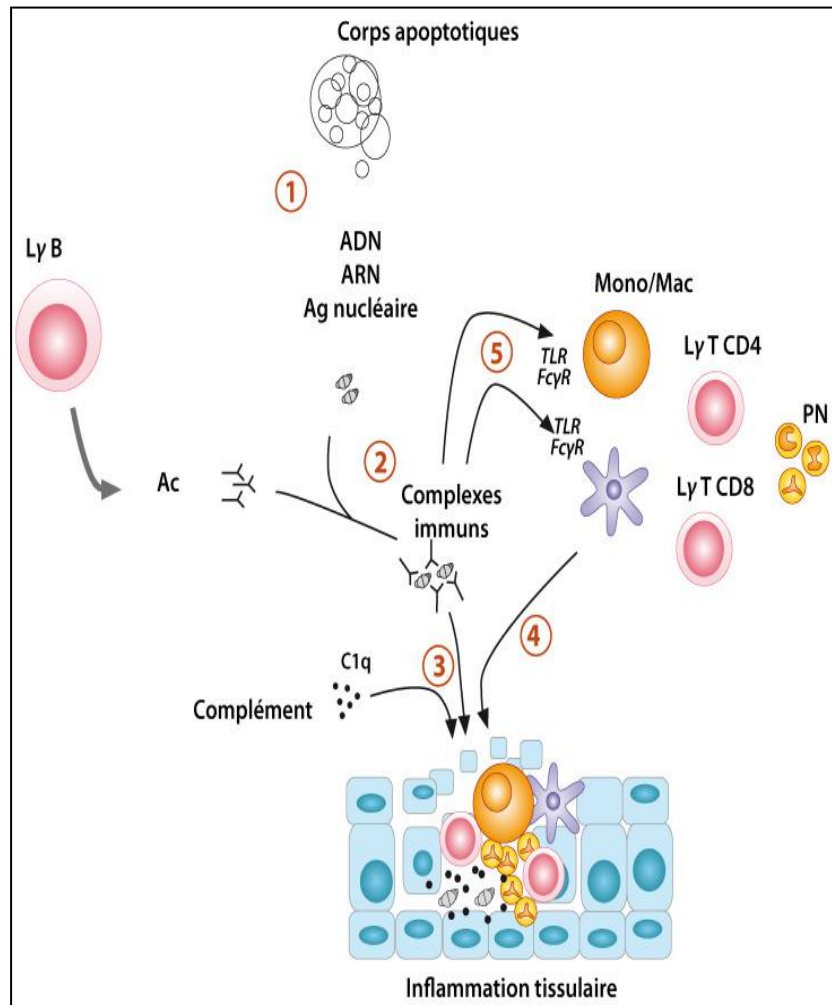


Figure 3: Schéma récapitulatif de la physiopathologie de lupus érythémateux systémique [28].

1.3.1.4 Traitements

- Les immunosuppresseurs : afin de traiter les formes sévères [34] .
- les anti-inflammatoires non stéroïdiens (A.I.N.S.) : plus particulièrement l'aspirine, afin de traiter les douleurs articulaires, les anti-malariques et les corticostéroïdes [35].

1.3.2 Syndrome de Gougerot-Sjögren (SGS)

C'est une MAI, également appelée "syndrome sec" [36]. Elle est caractérisée par une productions de divers types d'anticorps et principalement par une infiltration lymphocytaire [37] des deux glandes exocrines[38], les glandes salivaires dont la diminution de leurs sécrétion provoque une sécheresse buccale appelée "xérostomie ", et les glandes lacrymales dont la réduction de leurs sécrétion provoque une sécheresse oculaire appelée "xérophtalmie "[39].

1.3.2.1 Aspects cliniques

Les deux principaux sont :

- Xérostomie : une sécheresse buccale (**Figure4**). Les patients souffrent d'avoir la bouche très collante , du mal à mastiquer et encore lors de la déglutition, surtout dans les cas des aliments pauvres en eau (sec), ce qui provoque parfois une dysgueusie (perte de goût) [40].
- Xérophtalmie : une sécheresse oculaire (**Figure5**), les yeux de couleur rouge accompagnée des sensations de brûlures dues à la photosensibilité. Le patient ressent l'impression de grains de sables dans les yeux [37].



Figure 4: Xérophtalmie [38].



Figure 5: Xérostomie [41].

1.3.2.2 Epidémiologie

Cette pathologie affecte majoritairement les femmes [42]. La tranche d'âge la plus touchée se situe entre 40-60 ans (pour les femmes elle correspond à leurs période de la ménopause) [43].

1.3.2.3 Physiopathologie

Une activation des cellules épithéliales glandulaires (salivaires et lacrymales) est accompagnée d'une surexpression des molécules de Co-stimulation CD80/CD86 provoquant une infiltration lymphocytaire T et un recrutement de LB et de DC. Ces dernières vont stimuler la sécrétion des IFN, qui ont comme rôle d'activer les cellules recrutées particulièrement les LB, afin de produire des plasmablastes et des auto-anticorps de type anti-SSA et anti-SSB, responsables de la destruction des cellules épithéliales [44] (**Figure6**).

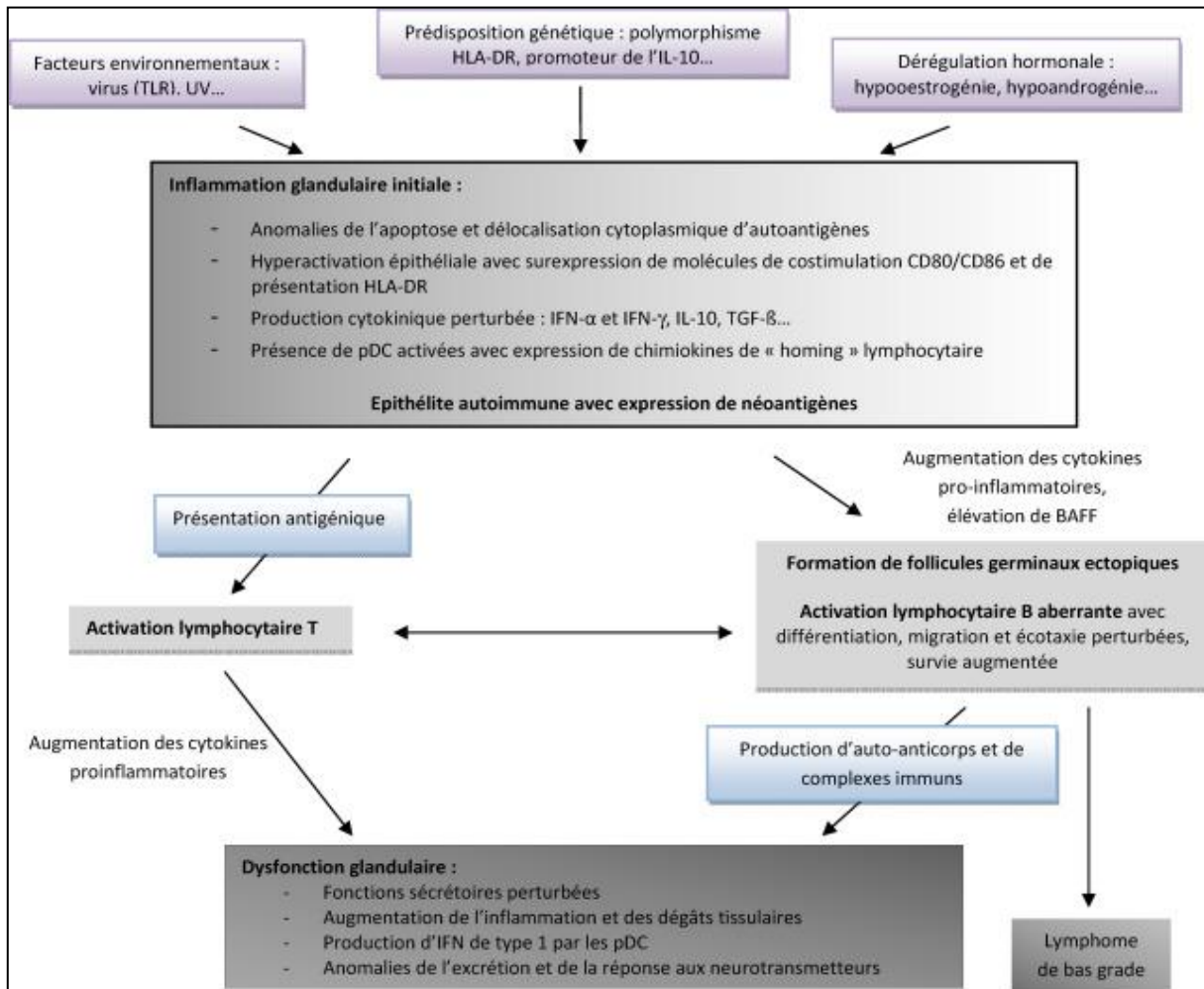


Figure 6: Schéma récapitulatif de la physiopathologie du syndrome de Gougerot-Sjögren [44].

1.3.2.4 Traitements

- Les collyres ou encore des larmes et des salives artificielles, afin de moduler les symptômes de sécheresse (oculaire et buccale) [45].
- Les immunosuppresseurs et immunomodulateurs dans le but de diminuer les symptômes [38].

1.3.3 Polyarthrite Rhumatoïde (PR)

La PR est une pathologie auto-immune caractérisée par une inflammation chronique de la membrane synoviale des articulations [46].

1.3.3.1 Aspects cliniques

- Des manifestations articulaires (**Figure 7**) dues à l'inflammation des articulations qui s'accompagne parfois d'une anémie modérée [47].



Figure 7: Atteintes articulaires au cours de la polyarthrite Rhumatoïdes [48].

1.3.3.2 Epidémiologie

L'estimation de la prévalence de la PR est en fluctuation [49] et apparaît variable d'une région à une autre [50].

La PR peut survenir à tout âge, avec une moyenne d'âge comprise entre 40 et 60 ans. Concernant le sexe, la PR est entre 2 à 5 fois plus fréquente chez la femme que chez l'homme [51].

1.3.3.3 Physiopathologie

Au cours de cette pathologie, les deux types d'immunité adaptative vont être mis en jeu à savoir l'immunité cellulaire et humorale.

Grâce à des molécules du système HLA de classe II, un antigène situé à distance de l'articulation interagit avec des lymphocytes T CD4+ et induit leur activation et la sécrétion d'interféron γ (IFN- γ) et d'interleukine 2 (IL2) [52]. Ces cytokines contribuent au recrutement des diverses cellules immunitaires tels que les lymphocytes LT et LB, les monocytes et les polynucléaires neutrophiles. Ces cellules déclenchent une cascade d'activation d'autres cellules immunitaires dont les cellules synoviales (macrophages synoviaux, fibroblastes, DC), qui vont sécréter de nombreuses cytokines des métalloprotéases (MMPs) et également des prostaglandines (PGE2) provoquant des lésions articulaires qui vont contribuer au recrutement des divers cellules immunitaires tels que les lymphocytes LT et LB, des

monocytes et des polynucléaires neutrophiles au déclenchement d'une cascade d'activation d'autres cellules immunitaires dont les cellules synoviales (macrophages synoviaux, fibroblastes, DC), qui vont sécréter de nombreuses cytokines des métalloprotéases (MMPs) et également des prostaglandines (PGE2), afin de provoquer des lésions articulaires [53].

1.3.3.4 Traitements

Les traitements symptomatiques consistent à administrer deux types de traitements à savoir:

- Les glucocorticoïdes (GC): Possédant un effet anti-inflammatoire et une action immunomodulatrice [54].
- les antalgiques et les AINS [46].

1.3.4 Polymyosite (PM)

Elle constitue une MAI systémique caractérisée par une élévation de taux d'enzymes musculaires, qui provoque une inflammation au niveau des muscles à l'origine de faiblesses musculaires [55].

1.3.4.1 Aspects cliniques

- Troubles musculaires parfois accompagnés à des myalgies.
- Elle provoque des troubles respiratoires lors de l'atteinte des muscles respiratoires et alors des problèmes de déglutition lorsqu'elle affecte les muscles de l'œsophage [56].

1.3.4.2 Epidémiologie

La PM peut survenir à tout âge mais ne touche cependant pas les enfants [55]. La probabilité de développer une PM est plus élevée chez les personnes âgées [57]. Concernant le sexe, la PM est deux fois plus retrouvée chez la femme que chez l'homme [58].

1.3.4.3 Physiopathologie

La PM est due à une lyse des fibres musculaires par les LT CD8+ cytotoxiques auto-réactifs après la reconnaissance des auto-antigènes musculaires grâce à des molécules HLA de classe I exprimées anormalement par ces fibres. Cette attaque des antigènes musculaires est à l'origine des lésions au niveau des muscles [59].

1.3.4.4 Traitements

Le traitement consiste à administrer une corticothérapie par l'utilisation de corticostéroïdes et d'immunosuppresseurs [55].

1.3.5 Sclérodermie systémique (ScS)

La ScS est une MAI rare qui affecte le tissu conjonctif. Elle est essentiellement caractérisée par une rigidité cutanée [60] et une atteinte vasculaire (vasculopathie) causée par la réduction de calibre des artères et l'épaississement de sa paroi [61]. une fibrose due à un dépôt excessif de collagène [62] et une production d'auto-anticorps est observée .Ce phénomène inflammatoire est dû à un dysfonctionnement de S I [63].

1.3.5.1 Aspects cliniques

La ScS présente un certain nombre de signes cliniques notamment :

- Le phénomène de Raynaud (troubles de la circulation sanguine au niveau des doigts et des orteils) (**Figure8**) [64].
- Une hypertension artérielle (HTA) et atteinte rénale [65].
- Une fibrose cutanée et douleurs articulaires [66].



Figure 8: Le phénomène de Raynaud[67].

1.3.5.2 Epidémiologie

Elle touche plus les femmes que les hommes (3-8 femmes/1homme). Elle peut survenir à tout âge mais se déclare avec prédilection entre 50 et 60 ans [68]. Chez les enfants, elle est extrêmement rare et représente moins de 5% de l'ensemble des ScS.

1.3.5.3 Physiopathologie

Cette pathologie est le résultat d'une boucle d'amplification (**Figure9**) formée par l'atteinte de trois types cellulaires : les cellules endothéliales, les fibroblastes et les cellules

immunitaires responsables d'une vasculopathie, d'une fibrose et d'un dysfonctionnement du système immunitaire, respectivement.

Grâce à l'expression de molécules d'adhésion cellulaire, des cellules endothéliales s'activent suite à une agression vasculaire. Cette activation contribue au recrutement des cellules inflammatoires. Ainsi l'endothélium endommagé permet une importante perméabilité vasculaire, provoquant un déséquilibre entre les facteurs hémostatiques et fibrinolytiques, une activation des plaquettes et un épaississement de la paroi vasculaire altérée. Cet épaississement est dû à l'action de cytokines essentiellement des molécules pro-fibrosantes (comme le TGF β), qui s'activent d'une manière autocrine suite à un dérèglement de la synthèse de ses récepteurs. Ce dysfonctionnement entraîne une fibrose cutanée suite à la prolifération des cellules musculaires lisses et la synthèse de composants de la matrice extracellulaires (MEC) sous la dépendance de facteurs de croissance, avec un échappement ou une résistance à l'apoptose des fibroblastes hyperactifs dépendant du TGF β [68] (Figure10).

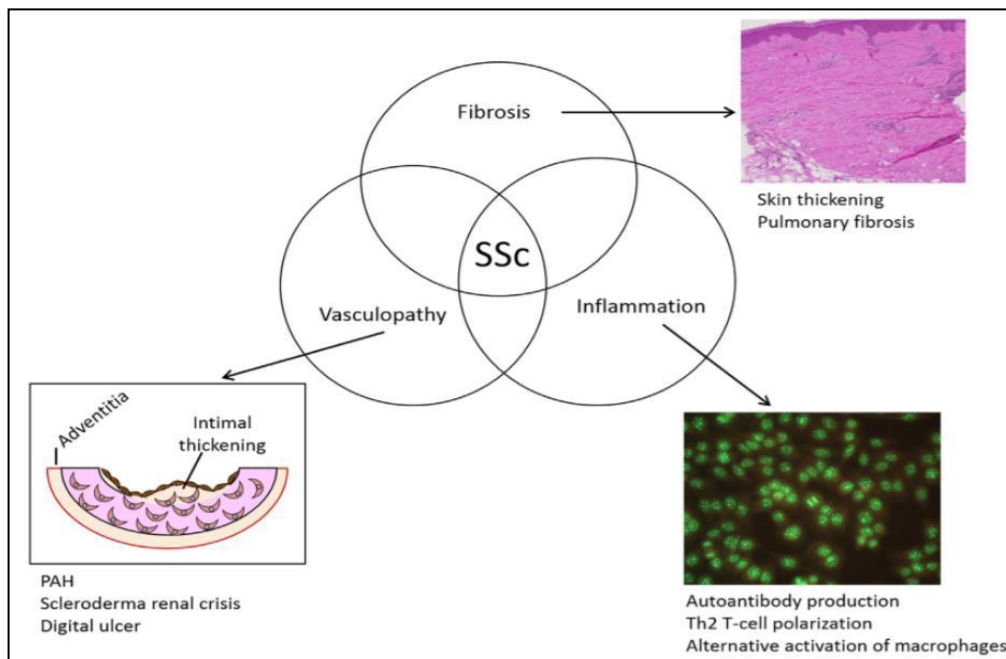


Figure 9: Les différents éléments de la boucle d'amplification de la physiopathologie de la sclérodémie systémique [67].

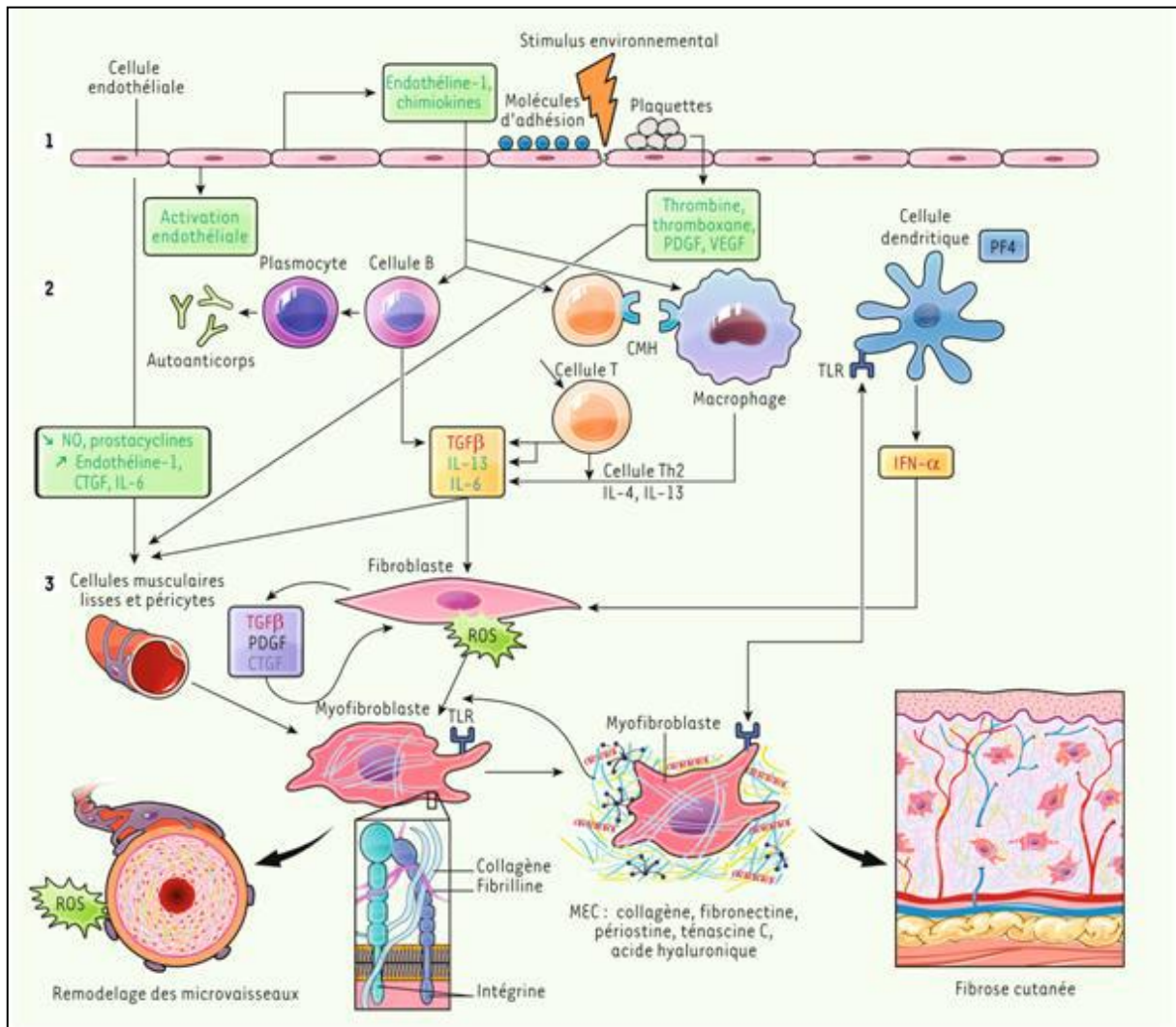


Figure 10: Schéma récapitulatif de la physiopathologie de la sclérodémie systémique [67].

1.3.5.4 Traitements

Le phénomène de Raynaud est traité par des inhibiteurs calciques. Les inhibiteurs de l'enzyme de conversion sont quant à eux utilisés dans la prévention et traitement des crises rénales. Les AINS pour les atteintes articulaires [69].

1.3.6 Connectivite mixte (Mixed Connective Tissue Disease MCTD)

Appelée aussi le syndrome de Sharp, c'est une MAI inflammatoire chronique rare caractérisé par un ensemble mixte de signes et de symptômes de plusieurs connectivites (LES, SGS, PR, PM, ScS) [13]. Elle se manifeste par la production d'un taux élevé d'anticorps antinucléaires dirigés contre des constituants du noyau cellulaire de type ribonucléoprotéine (RNP) [70].

1.3.6.1 Aspects cliniques

Elle peut se manifester par divers aspects appartenant à plusieurs connectivites dont les douleurs articulaires et les myalgies, la fatigue, un gonflement des mains et des atteintes rénales et pulmonaires [71].

1.3.6.2 Epidémiologie

Sa prévalence est mal estimée ; Elle peut survenir à tout âge mais Elle se déclare majoritairement chez les femmes avec un pic d'incidence entre 20 jusqu'à 30ans [72].

1.3.6.3 Physiopathologie

Elle est encore largement mal comprise, mais elle peut être développée suite à l'activation des LBs par les LTs par le biais de la production des cytokines tels que (IFN- γ , IL4, IL6 et IL10).L'activation des LBs induit leur différenciation et leur prolifération en plasmocytes productrices d'auto-anticorps dirigés contre les protéines des RNP fixant le complément responsable des lésions [73].

1.3.6.4 Traitements

L'utilisation d'une corticothérapie permet de réduire ses propriétés anti-inflammatoires et induire un effet immunosuppresseur global [73].

Chapitre II

Les Auto-anticorps et les Auto- antigènes

Les connectivites sont des pathologies résultant de la présence d'auto-anticorps antinucléaires (AAN) dirigés contre des auto-antigènes. Chaque auto-anticorps est spécifique d'un auto-antigène, qui lui-même est spécifique d'une maladie possédant ses propres aspects cliniques.

2 Anticorps antinucléaires AAN

2.1 Définition

Egalement connus sous le nom de facteurs antinucléaires (FAN) [74], ces molécules sont des anticorps produits par les plasmocytes suite à l'activation et la différenciation des Lymphocytes LB auto-réactifs, qui sont derrière le mécanisme auto-immun [75]. Ils sont dirigés contre une large gamme d'antigènes en relation avec la structure ou la fonction de noyau cellulaire [76].

2.2 Catégories des auto-anticorps AAN

On distingue neuf catégories d'auto-anticorps subdivisées en deux groupes distincts selon leur solubilité :

2.2.1 Anticorps anti-antigènes nucléaires insolubles (DNA)

Ces anticorps sont dirigés spécifiquement contre l'acide nucléique et les nucléoprotéines (ADN, histone et nucléosome).

2.2.1.1 Anticorps anti-ADN natif (dsDNA)

Les anticorps anti-ssDNA (Single-stranded DNA) sont dirigés contre le simple brin d'ADN dénaturé et n'ont aucun intérêt dans le diagnostic des connectivites et les anticorps anti-dsDNA (Double-stranded DNA) dirigés contre l'ADN natif double brin, qui possèdent une énorme valeur diagnostique. C'est le cas notamment dans le lupus où leur présence est un indicateur spécifique d'une atteinte lupique [77].

2.2.1.2 Anticorps anti-histones

Ces anticorps ciblent les cinq classes d'histones H1, H2A, H2B, H3 et H4. Leur présence n'est pas caractéristique d'une maladie typique mais sont retrouvés de manière habituelle dans le LES induit par les médicaments [78].

2.2.1.3 Anticorps anti-nucléosome

Ils sont dirigés contre une unité principale composée d'ADN bicaténaire (en double hélice) et d'histones. Leur présence est utile dans le diagnostic du LES [79] et la détection d'une atteinte rénale [77].

2.2.2 Anticorps anti-antigènes nucléaires solubles (ENA)

Ce sont des ACs spécifiques anti-RNP, anti-Sm, anti-SSA, anti-SSB, anti-Scl70, anti-centromère (ACA).

2.2.2.1 Anticorps anti-nucléo protéine (anti-RNP)

Ils représentent des anticorps anti-U1RNP, qui ont comme cible la première famille U1 des small nuclear ribonuclearprotein (snRNP), des ribonucléoprotéines jouant un rôle primordial dans l'épissage des ARN pré-messagers, et plus régulièrement contre des protéines associées à l'ARN [80]. Ils peuvent être utiles dans le diagnostic de la connectivité mixte (Syndrome de Sharp) [79].

2.2.2.2 Anticorps Anti-Smith (anti-Sm)

Ils sont associés d'une manière constante aux anticorps anti-U1snRNP [77], au même titre que les anti-(dsDNA). Les Anti-Sm sont spécifiques au LES [8].

2.2.2.3 Anticorps anti-Ro/SSA (Ro60)

« SS » correspond à « syndrome sec » ou « syndrome de Sjögren ». Ils ont comme cible diverses RNP, principalement les protéines du complexe antigénique Ro, qui est constitué de deux protéines de PM de 52 kDa et 60 kDa et quatre petits ARN connus sous le nom d'ARN Y (Y1, Y2, Y3, Y4). La réactivité anti-Ro/SSA peut s'observer majoritairement au cours du SGS (70%) et minoritairement au cours d'un LES (30%) [79].

2.2.2.4 Anticorps anti-La/SSB

Ils reconnaissent la protéine du complexe antigénique La, une phosphoprotéine couplée à des ARN transcrits par l'ARN polymérase III. Ils apparaissent dans 90 % des SGS souvent associés aux anti-Ro/SSA et dans 10% des LES [74].

2.2.2.5 Anticorps anti-Scl70

La topo-isomérase de type 1 dont le PM est de 86 à 100 kDa est la cible de ces anticorps. Leur présence est un indicateur spécifique d'une atteinte par la sclérodermie. Ils sont cependant, dans de rares cas, retrouvés chez des patients atteints par une connectivité [77].

2.2.2.6 Anticorps anti-centromère(ACA)

Il s'agit d'anticorps dirigés contre le kinétochore, une structure au niveau des chromosomes qui permet leur migration vers les deux pôles de la cellule lors de la mitose. Ils sont très spécifiques de la ScS [79].

2.3 Production des AAN

L'interaction de facteurs immunologiques, environnementaux et génétiques est à l'origine des MAI. La production des AAN repose sur une reconnaissance des auto-antigènes par les cellules présentatrices d'antigènes (CPA) et leur présentation aux lymphocytes auto-réactifs [15].

2.4 Structure des AAN

Ils appartiennent à la grande famille des auto-anticorps, au groupe des gammaglobulines (IgG), possédant une forte affinité à l'antigène [83].

2.5 Rôles des AAN

Les ANN sont exclusivement utilisés comme des biomarqueurs des connectivites [84][85]. En effet, ces derniers sont des critères de classification des MAI et servent dans le diagnostic des connectivites. Ils contribuent ainsi à l'orientation du diagnostic et servent de guide thérapeutique, afin de suivre l'évolution des pathologies sous traitement [86].

3 Auto-antigènes

Les auto-antigènes sont des complexes protéine/acide nucléique (**Tableau1**), reconnus comme cible par des AAN provoquant des maladies auto-immunes [81].

Tableau I: Les caractéristiques et les fonctions biologiques des auto-antigènes [81]; [82].

	Caractéristique	Fonction biologique
DsDNA	ADN bicaténaire (en double hélice) natif (non dénaturé).	Support de l'information génétique.
Histones	Ils sont des petites protéines basiques de masse moléculaire comprise entre 13 et 15 kDa, très riches en acides aminés basiques (lysine et arginine). Il existe cinq classes H1, H2A, H2B, H3 et H4.	Organisation des nucléosomes.

Nucléosomes	140 paires de bases nucléotidiques enroulées autour de 4 paires d'histones.	-compactage génomique. -centre de signalisation. -organisation de l'ADN nucléaire.
U1 snRNP	Il existe cinq grandes familles de snRNA (ou snRNP) : U1, U2, U4, U5 et U6. Ces ribonucléoprotéines peuvent s'associer à un grand nombre de peptides (plus de 11), dont le PM varie de 11 à 70 Kd.	Epissage du pré-ARNm.
Sm	Formé par l'association des peptides smB (28KD), smB(29KD), smD (16KD), smE (13 KD), et les polypeptides smF et smG des snRNP.	Epissage du pré-ARNm.
Ro /SSA	Ribonucléoprotéines de 52KD et 60KD comportants les ARNsn riche en uridine (hY1, hY3, hY4, hY5).	-Ro52 KDa est proteine de liaison avec ADN -la Ro60KDa a un role dans le control qualité de la production de la sous unité 5s du ARNr et aussi impliquée dans la traduction du ARNm.
La /SSB	Phosphoprotéine (48 kDa) associée a une grande variété des petits ARNs (précurseurs de l'ARNt, ARN 5s, ARN	facteur de terminaison de transcription de l'ARN-polymérase III.

	7S, ARN viral).	
Scl70	structure protéique de type Topoisomérase I avec un PM de 70kDa.	Elle permet la relaxation et condensation de l'ADN pendant sa transcription et sa duplication.
Centromère	formé de l'ADN et protéines centromérique, il porte les kinétochores.	Intervient dans déroulement de la mitose.

Chapitre III
Techniques de Diagnostic des
Connectivites

La recherche des auto-anticorps antinucléaires est réalisée par deux techniques à savoir l'immunofluorescence indirecte (IFI) et l'ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay). Ces techniques reposent sur une démarche dichotomique comprenant un test de dépistage global des anticorps antinucléaires et des tests spécifiques permettant leur identification (Ac anti-Ags).

4 Immunofluorescence indirecte (IFI)

4.1 Principe de l'immunofluorescence indirecte (IFI)

L'IFI utilise le principe d'une interaction antigène-anticorps (**Figure11**). Un anticorps possède la propriété unique, par son paratope ou site anticorps, de se combiner spécifiquement à l'épitope ou déterminant antigénique d'un antigène, qu'il soit exogène ou endogène (auto-antigène dans ce cas).

L'IFI s'effectue en deux temps : le complexe antigène-anticorps est révélé par un anticorps marqué spécifique de l'isotype du premier anticorps. Lors d'une première incubation, le sérum du patient, source potentielle des autoanticorps, est mis au contact d'un substrat (tissus ou cellules déposés dans les puits d'une lame de microscope). Après lavage, pour éliminer les protéines fixées faiblement de manière non spécifique, une deuxième incubation est réalisée avec un antisérum spécifique des immunoglobulines humaines marqué par un fluorochrome. Les fluorochromes sont des substances qui ont pour propriétés d'émettre une fluorescence dans le visible lorsqu'ils sont excités par une lumière dans les longueurs d'onde de l'ultraviolet. Trois sont d'utilisation courante : l'isothiocyanate de fluorescéine (FITC), la phycoérythrine(PE) et la rhodamine. La lecture se fait à l'aide d'un microscope à fluorescence équipé en épi-illumination [4].

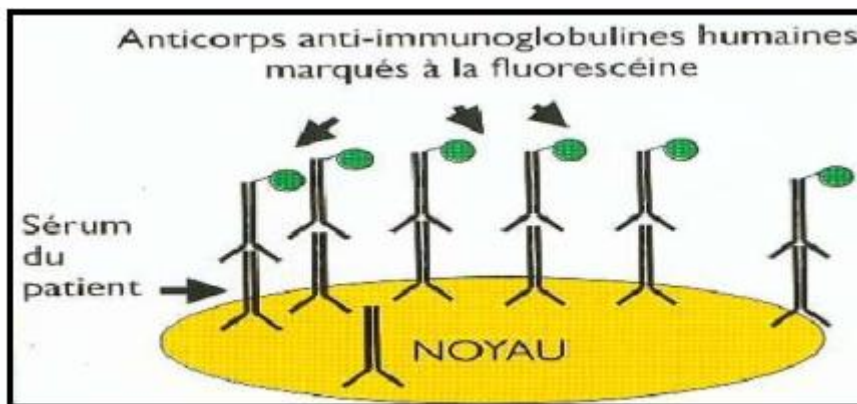


Figure 11 : Principe de la technique d'immunofluorescence indirecte [87].

4.2 Avantages et inconvénients de L'IFI

Tableau II: Les avantages et les inconvénients de la technique d'immunofluorescence indirecte [88].

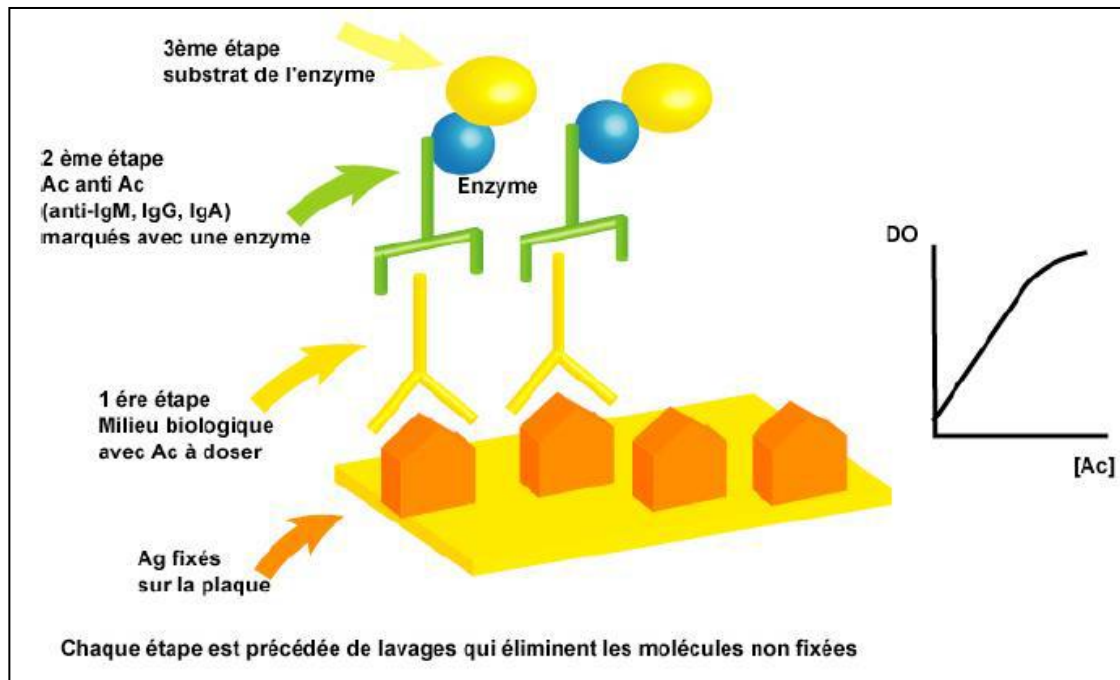
Avantages	Inconvénients
Facilité d'exécution : deux incubations de 30 minutes entrecoupées de lavages, ne nécessitant que des dilutions du sérum à tester.	L'investissement dans un microscope à fluorescence avec des objectifs de qualité.
Sensibilité : L'IFI est environ 100 fois sensible que l'immunoprécipitation.	L'expertise de lecture indispensable à une interprétation pertinente des résultats.
Possibilité de détecter plusieurs anticorps en même temps.	Le caractère non automatisable pour la totalité de la méthode avec le nécessaire contrôle de qualité de chaque étape.
Maintien de l'antigène dans sa conformation native et quasi assurance de détecter les auto-anticorps dirigés contre tous les types d'épitopes ; séquentiels et conformationnels.	Le biologiste doit connaître toutes les caractéristiques pour pouvoir interpréter avec pertinence les résultats. Les industriels doivent donc jouer la transparence et les mettre à disposition dans les notices techniques d'accompagnement (nature des antigènes, du conjugué, adsorption, fixation, etc...).

5 ELISA

5.1 Principe de technique ELISA

Il s'agit d'un dosage dans lequel un des réactifs (l'Ag ou l'Ac) est adsorbé sur un support plastique. La révélation de la réaction Ag-Ac est possible grâce au marquage du réactif libre par une enzyme. Plusieurs modalités de dosage sont possibles. Dans sa description initiale, la technique ELISA (**Figure12**) était utilisée pour doser un antigène (IgG humaines) et reposait sur le principe de la compétition : l'Ag apporté par le sérum entrainé en compétition avec une quantité définie du même Ag conjugué à une enzyme pour se fixer sur

une quantité limitée d'anticorps adsorbés sur le support plastique. Aujourd'hui, la plupart des techniques immuno-enzymatiques en microplaques utilisent le principe du sandwich plutôt que celui de la compétition, et l'utilisation du terme ELISA a été élargie pour désigner toute technique en microplaque utilisant un conjugué enzymatique. Pour la détection d'AC, le



procédé le plus utilisé est celui de L'ELISA indirecte [88].

Figure 12: Principe de la technique ELISA [89].

5.2 Avantages et inconvénients de la technique ELISA :

Tableau III: Les avantages et les inconvénients de la technique ELISA [88] ; [90] ;[91].

Avantages	Inconvénients
Sensibilité et spécificité élevée.	Exposée aux réactions faussement positives.
Une réalisation rapide de grandes séries d'analyses.	elle est dépendante de plusieurs facteurs principalement la nature et la qualité de l'Ag.
Précision de quantification des Acs.	L'efficacité de fixation de l'Ag sur un support solide.
Reproductibilité élevée.	Réaction enzymatique dépendante de température et de Ph.

Partie Expérimentale

Objectifs de l'étude

Notre étude s'est déroulée au niveau du service d'immunologie au CHU Nedir Mohamed de Tizi-Ouzou et a comme objectif principal la mise en évidence des avantages et des inconvénients de la technique ELISA au cours de l'exploration immunologique des Connectivites.

Les sérums utilisés proviennent de patients ayant consulté différents services et orientés vers le service d'immunologies car présentant des symptômes de connectivites.

La réponse à notre problématique repose sur de la réalisation d'un certain nombre de tâches à savoir :

- La comparaison entre les valeurs de références et les résultats fournis par la technique ELISA au niveau du laboratoire d'immunologie du centre hospitalo-universitaire Nedir Mohamed de Tizi-Ouzou, dans le but de l'évaluation de la fiabilité de la technique ELISA et la crédibilité de ses résultats.
- Le dépistage des AAN pour identifier la spécificité antigénique de la technique ELISA.
- La description des caractéristiques sémiologiques et immunologiques des connectivites à Tizi-Ouzou.
- La comparaison entre l'IFI et l'ELISA, afin de décrire les avantages et les inconvénients de chaque technique.

Matériel et Méthodes

1 Informations sur l'étude

1.1 Type et lieu de l'étude

Il s'agit d'une étude statistique rétrospective prospective réalisée au sein du laboratoire d'immunologie du CHU Nedir Mohamed de Tizi-Ouzou, à partir la période allant de 24 Avril 2022 au 5 Juin 2022. Les données suivantes ont été récupérées des fiches de renseignements des patients contenant les informations suivantes : le nom, le prénom, l'âge, le sexe, les signes cliniques, le diagnostic clinique suspecté et le service par lequel il a été orienté.

1.2 Population de l'étude

Cette étude a été effectuée sur un ensemble de 88 personnes pour l'étude rétrospective et 72 personnes pour l'étude prospective.

2 Matériels utilisés

- Pipettes 5, 100, 200, 300 et 500 microlitres
- Tubes sec de 4ml
- Récipient de 1litre
- Barrette de 96 puits sécables
- Micropipettes étalonnées
- Pipettes multicanaux
- Tubes en plastique ou en verre
- Compresses
- Embouts bleu et jaune
- Portoirs
- Vortex

2.1 Appareillage

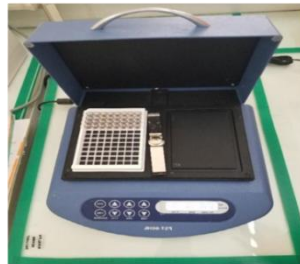
La chaine ELISA est constituée d'un :

- Incubateur agitateur : appareil qui permet d'incuber une solution sous agitation dans le but d'assurer une homogénéisation d'un milieu (les composants ou la température).
- Laveur automatique : appareil automatique qui permet de faire un lavage dans le but d'éliminer toutes molécules non fixées.

- Lecteur de microplaques par spectrophotométrie UV-visible : lecteur qui donne les résultats sous forme des densités optiques (DO) de chaque échantillon analysé.
- Logiciel de traitement de résultats en titre de densité optique «Gen5 » : c'est un logiciel pour la lecture des microplaques utilisés pour tracer les courbes et calculer les résultats.
- Réfrigérateur réglé a $+4^{\circ}$: il permet la conservation des échantillons à une température donnée.
- Centrifugeuse Hettich ROTOFIX : appareil permettant de soumettre nous échantillons a une rotation très rapide pendant des intervalles de temps variables et séparer les substances en deux phase pour récupérer une phase qui nous intéresse (sérum) **(Figure 13)** .



Centrifugeuse



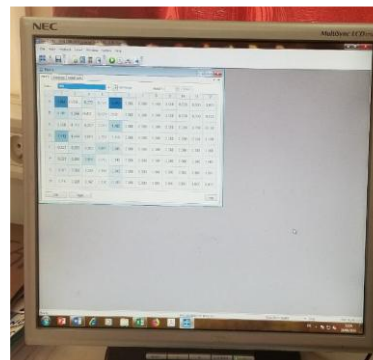
Lecteur de plaques ELISA



Laveur de plaques



Lecteur de microplaques



Logiciel de traitement des résultats

Figure 13: Les constituants de la chaîne ELISA.

2.2 Réactifs

Tableau IV: Répartition des réactifs dans les coffrets ELISA.

Réactifs	Coffret ELISA		
	ANA	ADN db	ENA
- Plaques de microtitration à Puits ELISA ANA.	+		
- Plaques de microtitration à Puits ELISA ADN db.		+	
- Plaques de microtitration à Puits ELISA ENA 6.			+
- Contrôle ELISA anti-ANA faiblement positif ANA pré-dilué. - Contrôle ELISA anti-ANA fortement positif ANA Pré-dilué.	+		
- Calibrateurs ADN db pré-dilués concentrations connues : A, B, C, D, E. - Contrôle négatif ELISA pré-dilué pour le test ELISA ADN db. - Contrôle positif Elisa pré-dilué pour le test Elisa ADN db. - Standard.		+	
- Contrôle Cut OFF ELISA ENA. - Contrôle positif profil ELISAENA.			+

- Diluant pour échantillons. - Tampon lavage HRP concentré. - Conjugué. - Substrat chromogène TMB.	+	+	+
- Eau distillée	Fournis par le laboratoire.		

+Présence de réactif dans le coffret ELISA

3 Méthodes

- **Exploration immunologique des connectivites**

Afin d'assurer la qualité et la traçabilité de nos résultats, une procédure est suivie au niveau du laboratoire d'immunologie du centre hospitalo-universitaire de Tizi-Ouzou. Elle consiste en une première étape de dépistage dans le but de détecter uniquement les AAN afin de donner un titre positif ou négatif. En cas de positivité une deuxième étape est effectuée afin d'identifier et établir un diagnostic de la maladie.

Chaque étape correspond à un type de technique ELISA, et chaque technique ELISA se base sur trois étapes principales à savoir :

- Etape pré-analytique
- Etape analytique
- Etape post analytique

La première étape consiste à prélever le sang du patient qui se présente à jeun. Les prélèvements sont envoyés au laboratoire accompagnés d'une fiche de renseignements contenant les données des patients.

Une fois dans le service d'immunologie, tous les prélèvements sont laissés à température ambiante afin d'avoir une coagulation sanguine (tout prélèvement hémolysé est écarté).

Après décollement, le sang coagulé est centrifugé à 3500tr /min pendant 03 minutes afin de séparer le sérum du culot globulaire.

Le sérum est ensuite récupéré dans un tube sec, étiqueté avec les informations correspondantes aux patients. Ensuite conservé à température ambiante pour être utilisé par la suite dans les différents dosages immunologiques et biochimiques prévus. Si le test n'est pas

fait dans les premières 8h, le sérum sera conservé sous une température de +4C°.

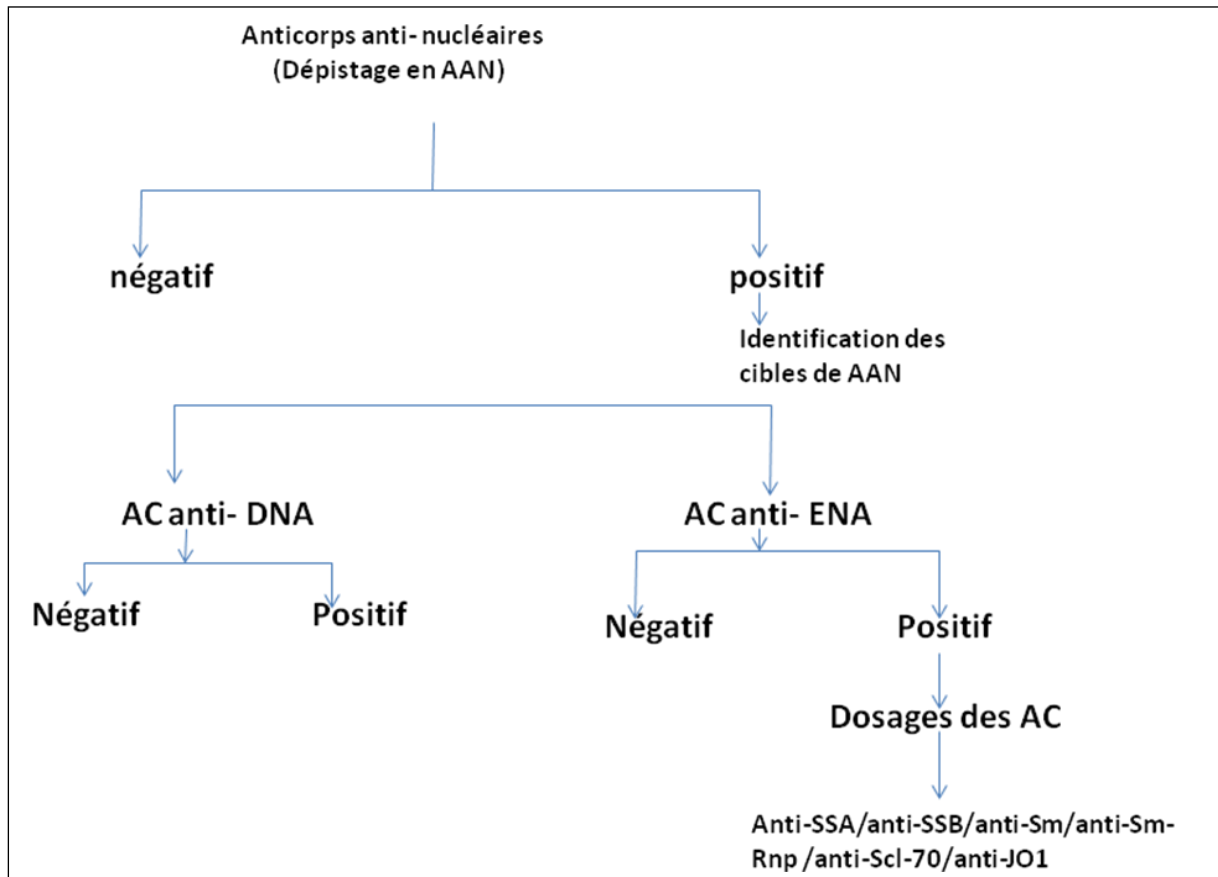


Figure 14: Les étapes de la recherche des AAN pour le dépistage des connectivites.

3.1 Etape de screening : technique ELISA appliquée au dépistage des AAN

Le but de cette étape est de discriminer entre un patient positif et un patient négatif. Cette étape est indispensable au diagnostic puisque la seconde étape qui consistera à rechercher des AC anti DNA et ENA dépend de la positivité du premier test.

Le seuil de positivité repose sur les valeurs définies dans le tableau ci-dessous

Tableau V: Interprétation des titres des anticorps anti-nucléaires obtenus.

Résultats AAN	Interprétations
< 20 UE/ml	Négatif
20-60 UE/ml	Modérément positif
> 60 UE/ml	Fortement positif

UE : unité enzymatique.

Dans le cas d'un test positif, une recherche anticorps anti ADN est effectuée selon les étapes suivantes

- **Mode opératoire**

- Les sérums sont dilués au 1/100 (10µL de sérum +1000µL de diluant échantillon) afin d'éviter la compétition entre les Acs pour la fixation, puis sont soumis au vortex afin de les homogénéiser.
- Déposer 100µl de chaque contrôle (contrôle positif et négatif), standard et cinq calibrateur (A, B, C, D, E) pré-dilués et 100µl de chaque échantillon dilué dans les puits appropriés.
- Incubation 30min
- Lavage 3fois avec le tampon de lavage pendant 15min (cinq min pour chaque lavage) en utilisant un laveur automatique.
- Après le lavage final, Retourner la plaque en la tapotant sur un papier absorbant pour enlever tout le liquide de lavage résiduel et s'assurer qu'aucune bulle d'air n'est emprisonnée dans les puits.
- Distribuer 100µL de conjugué dans chaque puits à la même vitesse et dans le même ordre que les échantillons
- Incubation 30min dans un incubateur agitateur à température ambiante
- Lavage 3 fois pendant 15 min.
- Retourner la plaque en la tapotant sur un papier absorbant. Distribution de 100µl de substrat (chromogène TMB) dans chaque puits à la même vitesse et dans le même ordre que les échantillons et laisser incuber à l'obscurité 30 min dans un incubateur agitateur à température ambiante.

- Ajouter 100µl de solution d'arrêt HRP dans chaque puits. Les échantillons positifs passeront de bleu au jaune.
- le lecteur de micro puits est programmé pour lire avec une longueur d'onde de 540 nm et mesurer la densité optique de chaque puits.

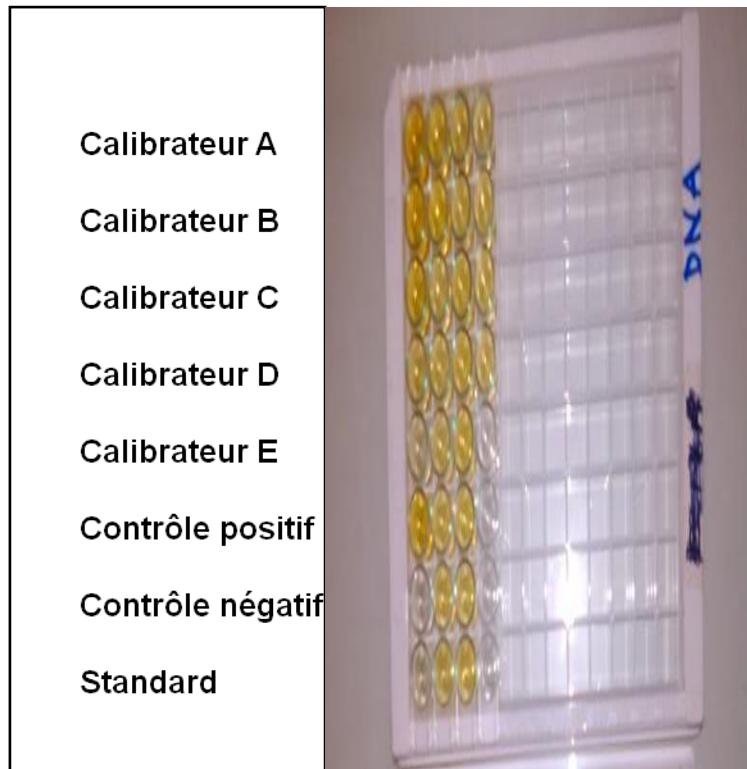


Figure 15: Microplaque ELISA à puits recouverts d'antigènes ADN db.

- **Contrôle de qualité du test ELISA anti-ADN db**

Pour valider les résultats obtenus, tous les critères décrits ci-dessous doivent être vérifiés ; Un seul critère non vérifié est suffisant pour considérer le test comme non valide et à refaire

- Les valeurs obtenues pour tous les contrôles doivent être dans les gammes spécifiées sur la fiche de contrôle qualité : contrôle négatif <30 UI/ml, contrôle positif = [220-380] UI/ml et le contrôle ST <50UI/ml.
- La forme de la courbe doit être similaire à celle fourni sur le certificat de contrôle qualité
- Si les critères ci-dessus ne sont pas respectés de test est invalide et doit être refait.

Tableau VI: Interprétation des titres des anticorps anti- ADN db obtenus.

Résultats DNA	Interprétation
< 30UI /ml	Négatif
[30-75]UI /ml	Douteux
>75UI/ml	Positif

UE : unité enzymatique

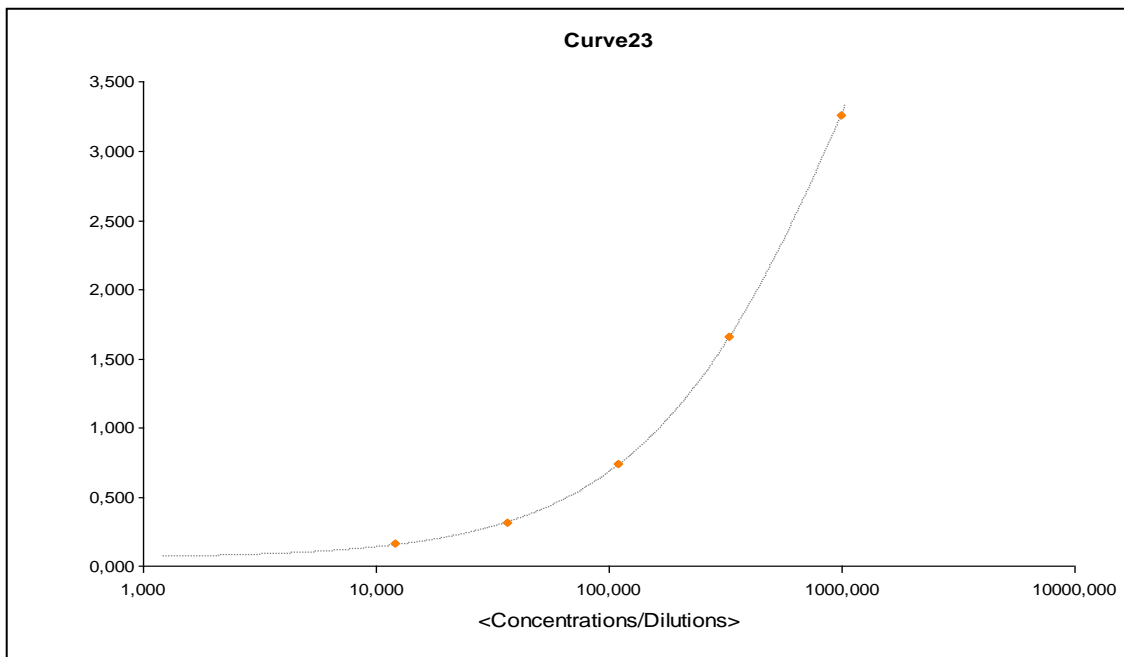


Figure 16 : Courbe de calibration obtenue lors d'un test ELISA anti ADNdb.

3.2 Identification des Anticorps anti-antigènes nucléaires solubles ENA6

- **Mode opératoire :**

- Les sérums sont dilués au 1/100 (10µL de sérum +1000µL de diluant échantillon) afin d'éviter la compétition entre les Acs pour la fixation, puis sont soumis au vortex afin de les homogénéiser.
- Deux barrette de la plaque sont réservés aux deux contrôles cut-off et control+ dont une quantité de 100µL. La même quantité est distribuée pour les autres puits qui sont réservés aux sérums dilués des patients
- Incuber pendant 30 minutes dans un incubateur agitateur à température ambiante.

- à l'aide de tampon dilué, On procède un lavage 3 fois pendant 15 min (5min pour chaque lavage).
- Retourner la plaque en la tapotant sur un papier absorbant pour enlever tout le liquide de lavage résiduel et s'assurer qu'aucune bulle d'air n'est emprisonnée dans les puits
- Distribuer 100µL de conjugué dans chaque puits à la même vitesse et dans le même ordre que les échantillons
- Incubation 30min dans un incubateur agitateur à température ambiante
- Lavage 3 fois pendant 15 min.
- Retourner la plaque en la tapotant sur un papier absorbant
- Distribution de 100µl de substrat (chromogène TMB) dans chaque puits à la même vitesse et dans le même ordre que les échantillons et laisser incuber à l'obscurité 30 min dans un incubateur agitateur à température ambiante.
- Ajouter 100µl de solution d'arrêt HRP dans chaque puits. Les échantillons positifs passeront de bleu au jaune.
- le lecteur de micro puits est programmé pour lire avec une longueur d'onde de 540 nm et mesurer la densité optique de chaque puits.

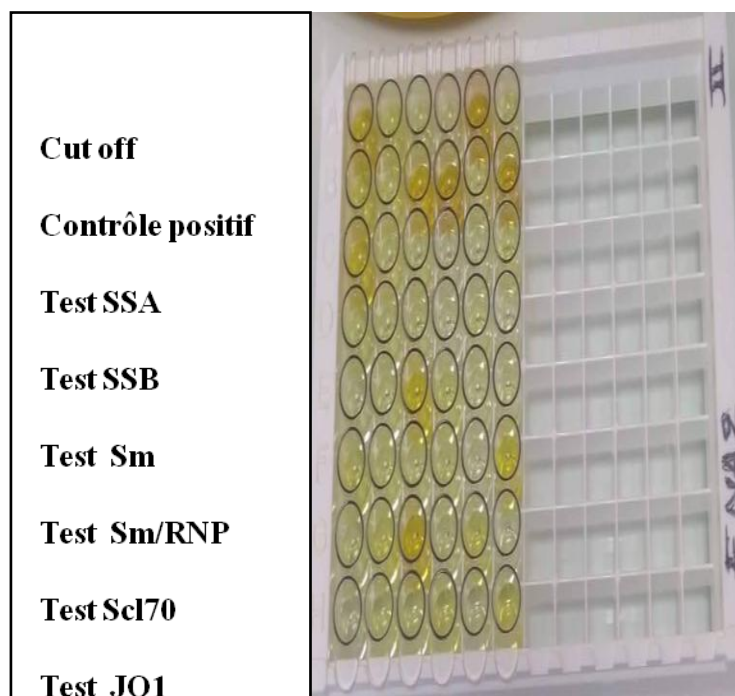


Figure 17: Microplaque ELISA à puits recouverts d'antigènes ENA6.

- **Contrôle de qualité du test ELISA ENA-6 :**

Pour valider les résultats obtenus, tous les critères décrits ci-dessous doivent être vérifiés ; Un seul critère non vérifié est suffisant pour considérer le test comme non valide et à refaire :

- La densité optique de Cut OFF doit être égale à (0,1-1)
- Le Contrôle positive doit être égale à = (25-55) U /ml
- si les critères ci-dessus ne sont pas respectés de test est invalide et doit être refait.

Tableau VII: Interprétation des titres des anticorps anti- ENA obtenus.

Résultats ENA	Interprétations
< 8.0 UE/ml	Négatif
8.0-12 UE/ml	Douteux
> 12 UE/ml	Positif

UE : unité enzymatique

Résultats

1 Etude rétrospective

1.1 Incidence des connectivites dans le service d'Immunologie au CHU de Tizi-Ouzou

Nous avons réalisé dans un premier temps une étude rétrospective à partir des données enregistrées dans le service d'Immunologie sur la survenue des connectivites.

Les données montrent que parmi les 88 patients présentant des signes cliniques de connectivites, seuls 34 patients, correspondant à une fréquence de 38,63% étaient positifs après réalisation du test de screening avec la technique ELISA (**tableau VIII**).

Tableau VIII: Répartition des patients selon la positivité et la négativité d'après le test ELISA.

	Positif	Négatif
Effectif (n=88)	34	54
Fréquence (%)	38,63	61,37

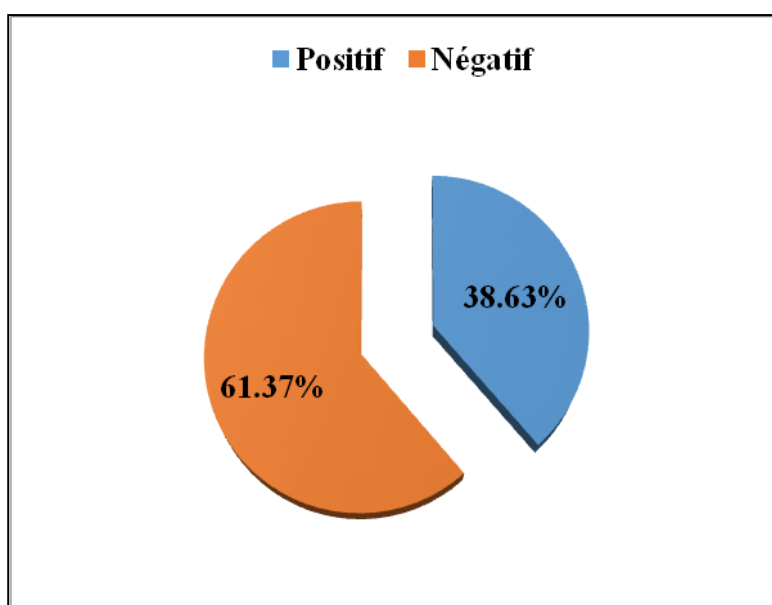


Figure 18: Répartition des patients selon la positivité et la négativité d'après le test ELISA.

1.1.1 Analyse descriptive des données civiles selon signes cliniques

1.1.1.1 Répartition des patients selon la tranche d'âge

Nous nous sommes intéressées à la survenue des connectivites en fonction de l'âge des patients considérés comme présentant des signes cliniques de ces pathologies. La répartition des patients a été établie selon des tranches d'âge allant d'une extrême de 1 an à une maximale de 89 ans. Nos résultats ci-dessous, révèlent que sur un total de 88 patients ayant consulté ce service, l'âge moyen est de 42 ans. On remarque, une prédominance chez les patients ayant un âge compris entre 30 et 59 ans avec une moyenne de 44,5 ans (**Tableau IX**).

Tableau IX: Répartition des patients selon les tranches d'âge.

Tranche d'âge	Nombre de cas	Fréquences%
1-9 ans	5	5,68
10-19ans	7	7,95
20-29ans	12	13,64
30-39ans	15	17,05
40-49ans	17	19,32
50-59ans	15	17,05
60-69ans	6	6,82
70-79ans	10	11,36
80-89ans	1	1,13
Total	88	100

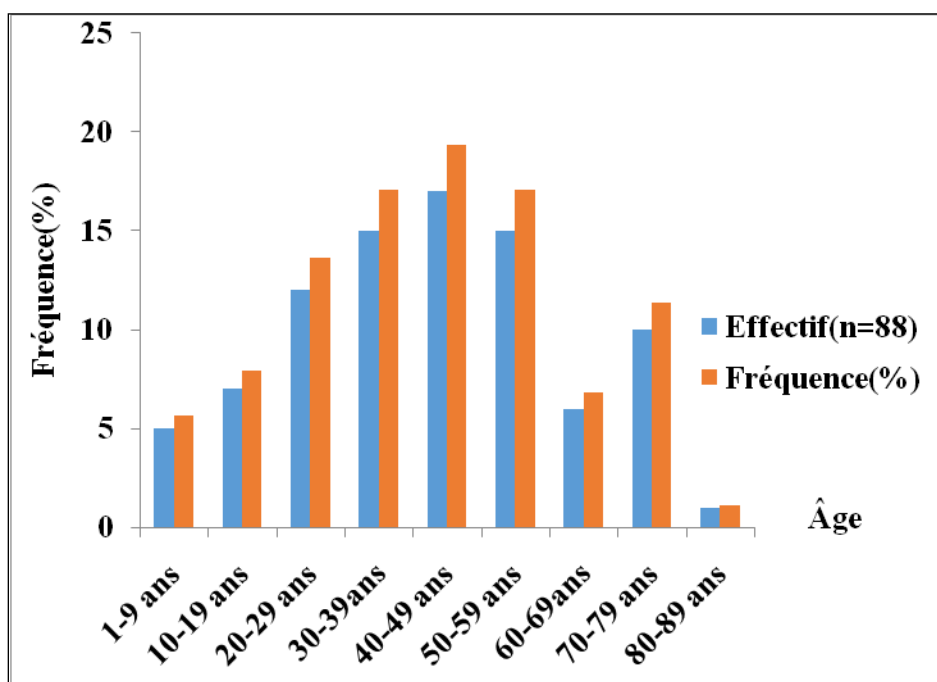


Figure 19: Répartition des patients en fonction d'Âge (selon signe clinique connectivite+).

1.1.1.2 Répartition des patients selon le sexe

Non résultats montrent une prédominance des connectivites chez les femmes (Tableau X). En effet, sur un effectif total de 88 patients présentant des signes cliques associés aux connectivites, 71 étaient des femmes avec une fréquence de 80,68%.patients contre 19,32%.des hommes.

Tableau X: Répartition des patients selon le sexe.

Sexe	Effectif (n=88)	Fréquences(%)
Hommes	17	19,32
Femmes	71	80,68
Total	88	100

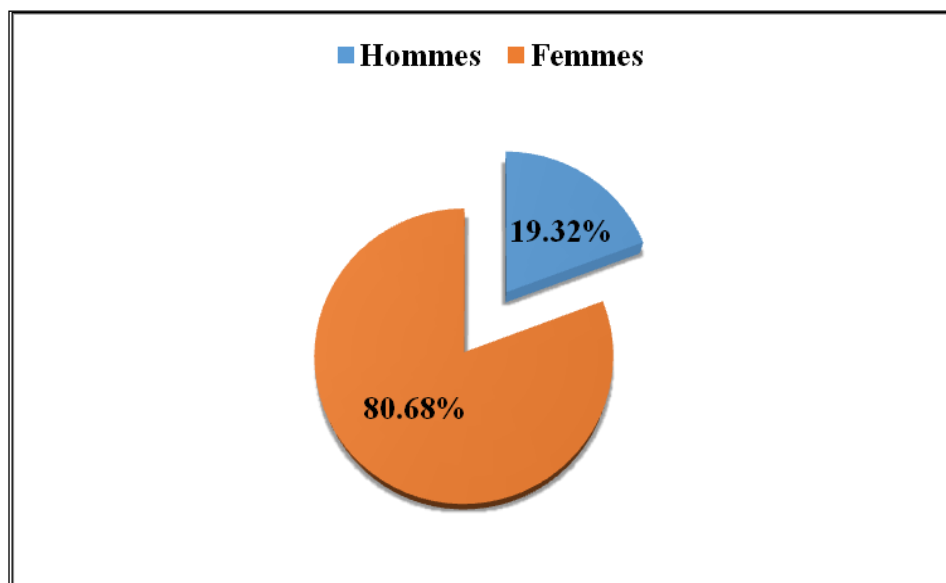


Figure 20: Cercle relativiste représente la répartition des patients selon le sexe.

1.1.1.3 Répartition selon type de connectivite

Les résultats du tableau Montrent la répartition des patients selon le type de connectivite correspondant à des signes cliniques précis. Notre étude montre une prédominance de la connectivite mixte avec une fréquence de 27,27% suivi de la polyarthralgie avec 25% et enfin du lupus avec 16 patients sur les 88 (**tableau XI**).

Tableau XI: Répartition de patients selon le type de connectivites.

Type de connectivite	Effectif (n=88)	Fréquence(%)
Polyarthrite	14	15,91
Lupus systémique	16	18,18
Connectivite mixte	24	27,27
Sclérodermie systémique	1	1,14
Syndrome de gougerot-sjogren	1	1,14
Polymyosite	2	2,27
SAPL	8	9,09
Polyarthralgie	22	25
Total	88	100

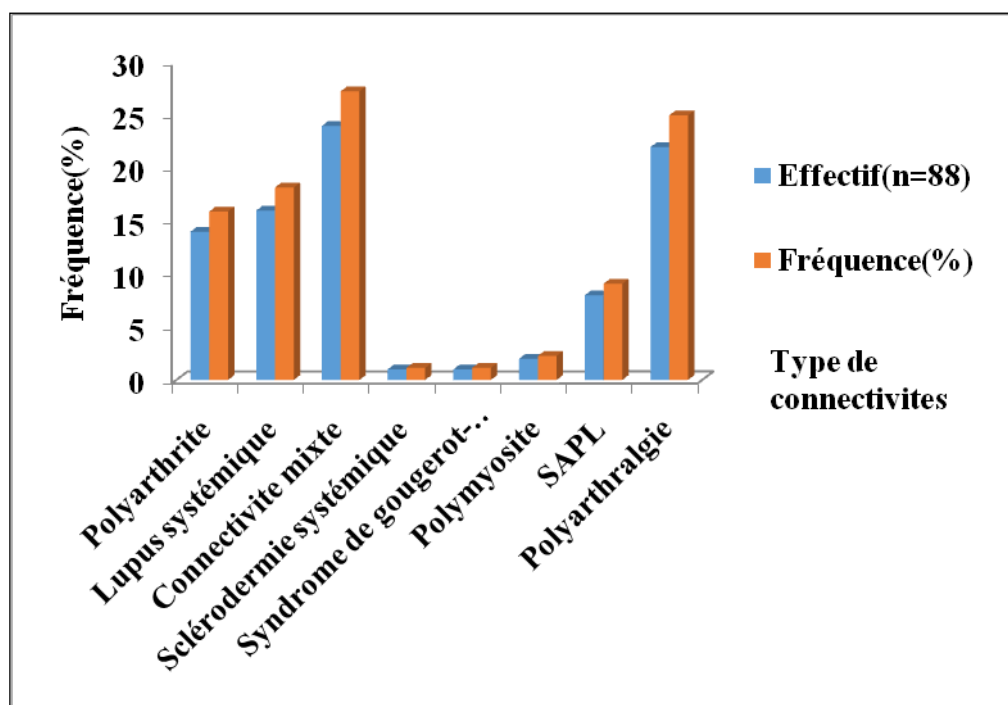


Figure 21: Histogramme représente la répartition des patients selon le type de connectivites.

1.1.1.4 Répartition selon les cas positifs et négatifs

- Pour les femmes

Parmi les 71 femmes (**Tableau XII**) les résultats sont avérés ainsi :

- 29 femmes positives avec un pourcentage de 40,85%.
- 42 femmes négatives avec un pourcentage de 59,15%.

Tableau XII : Répartition des femmes selon la positivité et la négativité.

Sexe	Femme+	Femmes-
Effectif (n=71)	29	42
Fréquence(%)	40,85	59,15

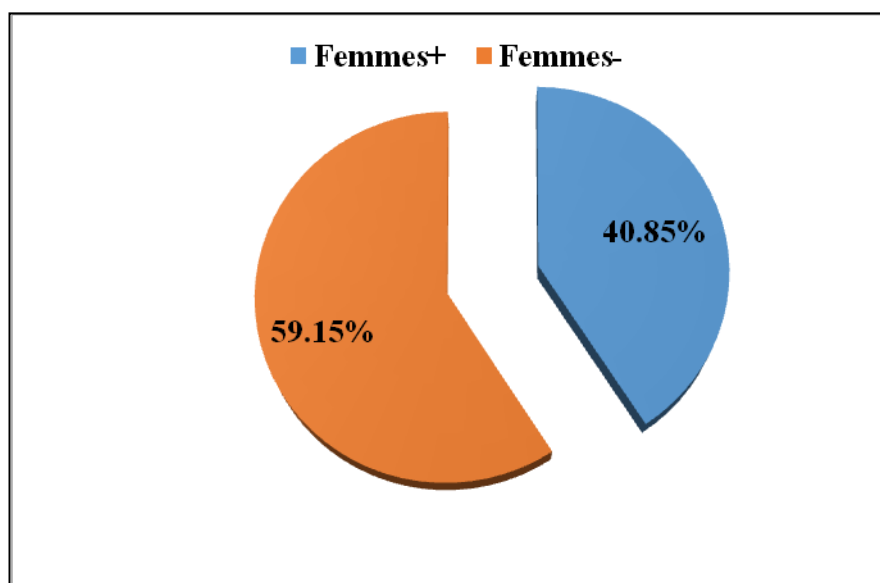


Figure 22 : Cercle relativiste représente la répartition des Femmes négatives et positives.

- **Pour les Hommes**

Parmi les 17 hommes (**Tableau XIII**) les résultats sont avérés ainsi :

- 5 hommes positifs avec un pourcentage de 29,41%.
- 12 hommes négatifs avec un pourcentage de 70,59%.

Tableau XIII: Répartition des hommes selon la positivité et la négativité.

Sexe	Hommes+	Hommes-
Effectif (n=17)	5	12
Fréquence(%)	29,41	70,59

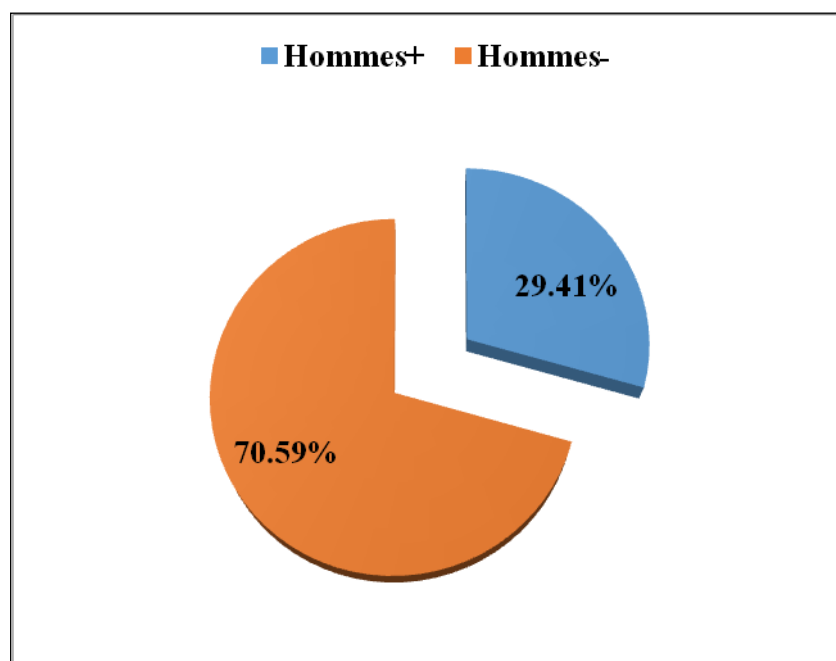


Figure 23 : Cercle relativiste représente la répartition des Hommes négatifs et positifs.

2 Etude prospective

Les données montrent que parmi les 72 patients présentant des signes cliniques de connectivites, seuls 24 patients (correspondant à une fréquence de 33,33%) étaient positifs après réalisation du test de screening avec la technique ELISA (**Tableau XIV**).

Tableau XIV: Répartition des patients selon la positivité et la négativité d'après le test ELISA.

	Positif	Négatif
Effectif (n=72)	24	48
Fréquence(%)	33,33	66,67

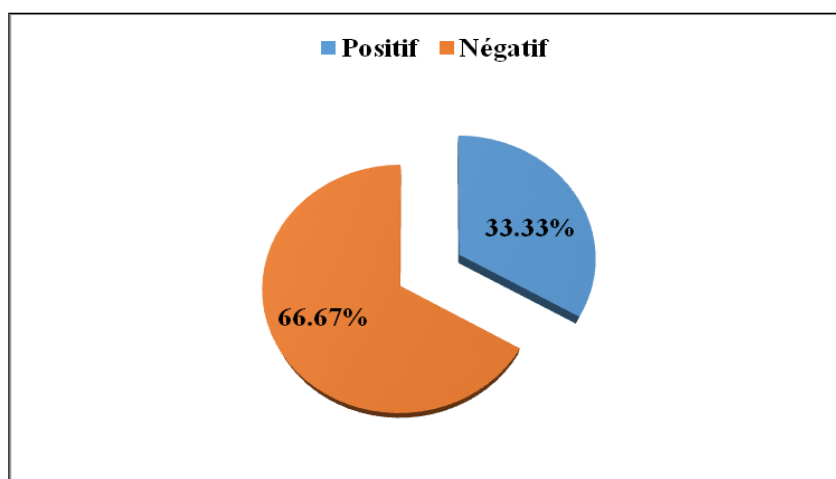


Figure 24: Répartition des patients selon la positivité et la négativité d'après le test ELISA.

2.1 Répartition des patients étudiés dans notre série

2.1.1 Selon l'Age

Nous nous sommes intéressées à la survenue des connectivites en fonction de l'âge des patients considérés comme présentant des signes cliniques de ces pathologies. La répartition des patients a été établie selon des tranches d'âge allant d'une extrême de 1 an à une maximale de 89 ans. Nos résultats ci-dessous, révèlent que sur un total de 72 patients ayant consulté ce service, l'âge moyen est de 45,8 ans. On remarque, une prédominance chez les patients ayant un âge compris entre 30 et 59 ans avec une moyenne de 44,5 ans (**Tableau XV**).

Tableau XV: Répartition des patients selon les tranches d'âge.

Tranche d'âge	Effectif (n=72)	Fréquence(%)
1-9 ans	4	5,56
10-19ans	3	4,17
20-29ans	3	4,17
30-39ans	14	19,44
40-49ans	17	23,61
50-59ans	14	19,44
60-69ans	12	16,67
70-79ans	5	6,94
80-89ans	0	0
Total	72	100

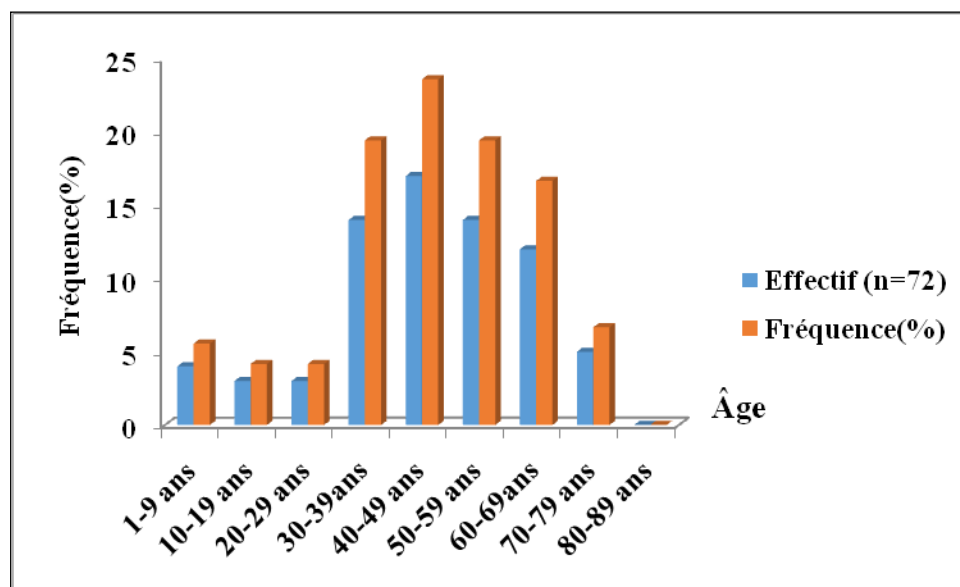


Figure 25: Histogramme représente les fréquences des patients en fonction d'âge.

2.1.2 Selon le sexe

Parmi les 72 patients représentant une connectivite 70,83% sont de sexe féminin. Cela confirme que les femmes sont les plus touchées que les hommes (**Tableau XVI**) Dont :

- 51 femmes ce qui correspond à un pourcentage de (70,83%)
- 21 hommes ce qui correspond à un pourcentage de (29,17%)

Tableau XVI: Répartition des patients selon le sexe.

Sexe	Effectif (n=72)	Fréquences(%)
Hommes	21	29,17
Femmes	51	70,83
Total	72	100

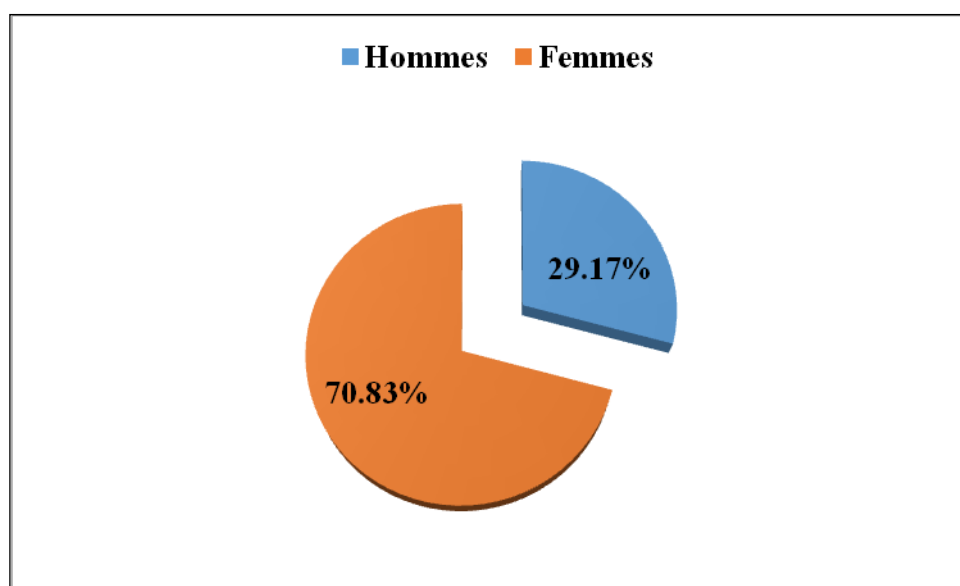


Figure 26 : Cercle relativiste représente la répartition des patients selon le sexe.

2.1.3 Selon la positivité : femmes et hommes

Parmi les 72 patients représentant une maladie auto-immune (**Tableau XVII**) .les résultats sont avérés ainsi :

- 18 femmes positives avec un pourcentage 75%.
- 6 hommes positifs avec un pourcentage 25%.

Tableau XVII : Répartition des patients selon la positivité.

Sexe	Femmes+	Hommes+
Effectif (n=24)	18	6
Fréquences(%)	75	25

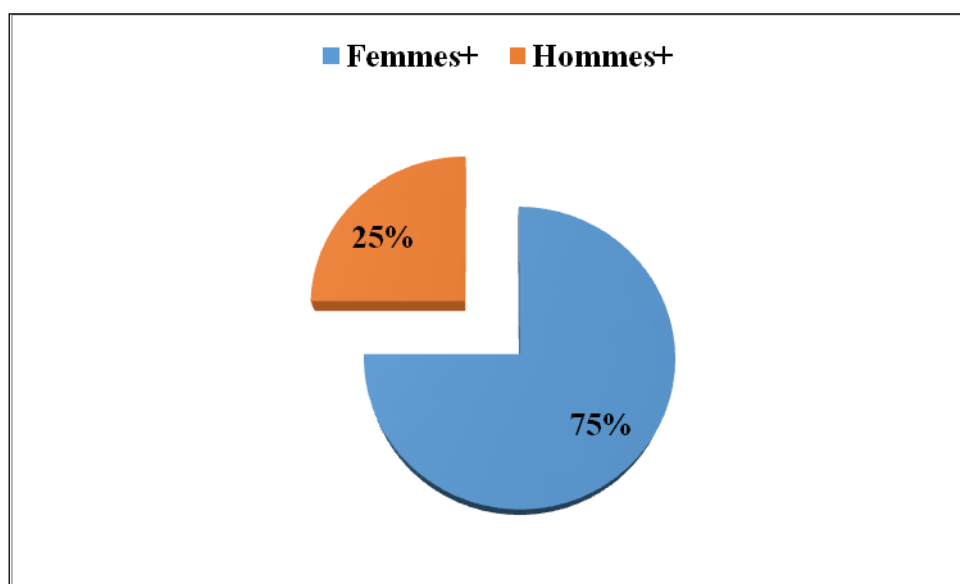


Figure 27 : Cercle relativiste représente la répartition des patients selon la positivité.

2.1.4 Selon le type de connectivites

Dans notre population nous avons remarqué la présence de huit types de maladies différentes, dont la polyarthralgie est la plus représentée avec (44,44%), suivie de polyarthrite avec un pourcentage de 31.94% respectivement. Ensuite le lupus systémique avec un pourcentage de (8,33%); syndrome de Gougerot (8,33%); SAPL (4,17%); les connectivites mixte (2,78%) et la polymyosite avec un pourcentage de (1,39%). Pour la sclérodermie systémique (0%) (**Tableau XVIII**).

Tableau XVIII : Répartition de patients selon le type de connectivite.

Type de connectivite	Effectif (n=72)	Fréquence(%)
Polyarthrite	23	31,94
Lupus systémique	6	8,33
Connectivite mixte	2	2,78
Sclérodermie systémique	0	0
Syndrome de Gougerot-sjogren	5	6,94
Polymyosite	1	1,39
SAPL	3	4,17
Polyarthralgie	32	44,44
Total	72	100

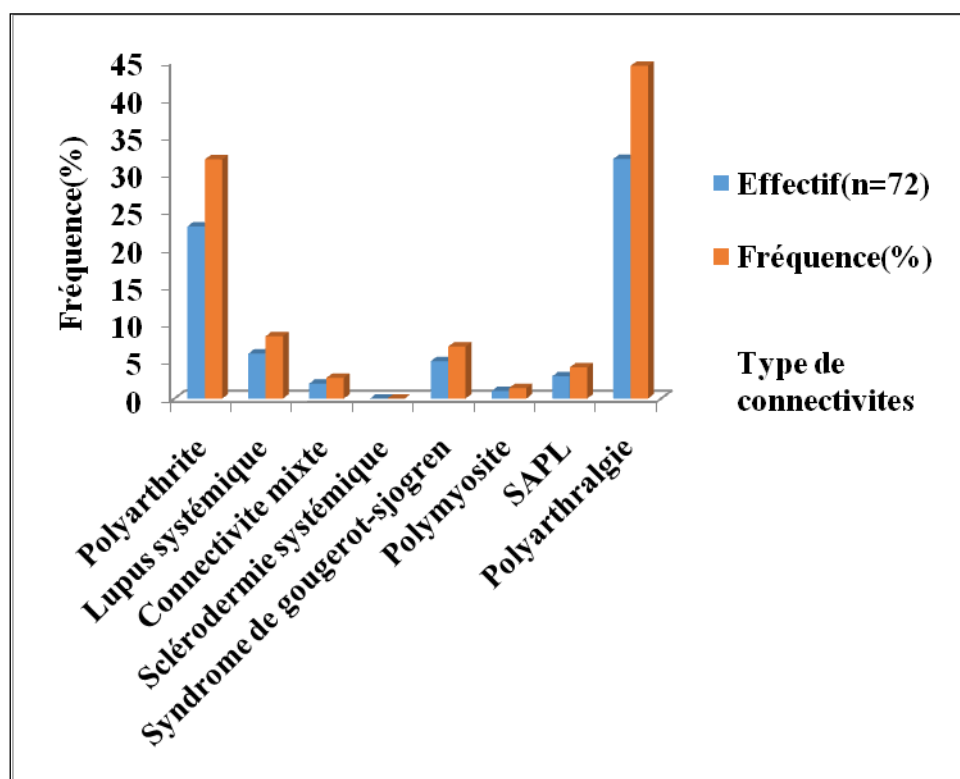


Figure 28 : Histogramme représente la répartition des patients selon le type de connectivites.

2.1.5 Répartition selon les cas positifs et négatifs

- Pour les femmes

Parmi les 51 femmes (Tableau XIX) les résultats sont avérés ainsi :

- 18 femmes positives avec un pourcentage de 35,29%.
- 33 femmes négatives avec un pourcentage de 64,71%.

Tableau XIX : Répartition des femmes selon la positivité et la négativité.

Sexe	Femmes+	Femmes-
Effectif (n=51)	18	33
Fréquence(%)	35,29	64,71

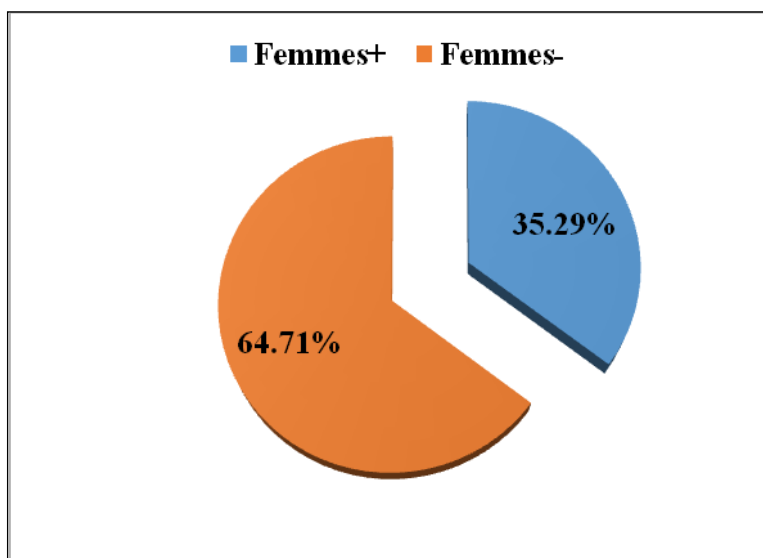


Figure 29: Cercle relativiste représente la répartition des femmes positives et négatives.

• **Pour les Hommes**

Parmi les 21 hommes (**Tableau XX**) les résultats sont avérés ainsi :

- 6 hommes positifs avec un pourcentage de 28,57%.
- 15 hommes négatifs avec un pourcentage de 71,43%.

Tableau XX : Répartition des Hommes selon la positivité et la négativité.

Sexe	Hommes+	Hommes-
Effectif (n=21)	6	15
Fréquence(%)	28,57	71,43

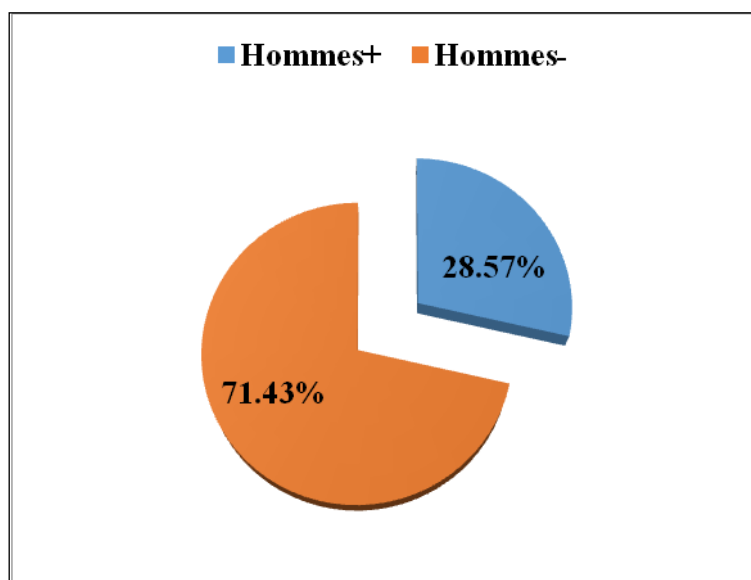


Figure 30: Cercle relativiste représente la répartition des hommes négatifs et positifs.

3 Répartition des patients selon leur profil en ANA

La totalité des patients de notre série avaient des ANA négatif (66,67%). des patients avaient un titre douteux entre 20 et 60 UA/ml (9,72%), tandis que 23,61% de nos patients avaient un titre fortement positif (> 60 UA/ml) (Tableau XXI).

Tableau XXI : Répartition des patients selon leur profil en ANA.

Titre des AAN UA/ml	Effectif	Pourcentage%
Titre < 20	48	66,67%
20 ≥Titre ≤60	7	9 ,72%
Titre > 60	17	23 ,61%
Total	72	100%

4 Répartition des patients selon leur profil en anticorps anti-DNA natif

La totalité des patients de notre série avaient des DNA négatif est (95,83%). Des patients avaient un titre douteux entre 30et75 UA/ml (0%), tandis que 4 ,17%% de nos patients avaient un titre fortement positif (> 75UA/ml) (**Tableau XXII**).

Tableau XXII : Répartitions des patients selon leur profil en anticorps Anti-DNA natif.

Titre en Anti-DNAn UI/ml	Effectif	Pourcentage %
Titre <30	69	95,83%
30 ≤ Titre ≤75	0	0%
Titre ≥ 75	3	4 ,17%
Total	72	100%

5 Répartition des patients selon leur profil en anticorps anti-antigènes Extractibles ou solubles (Anti-ENA)

A partir de notre étude, on trouve que :

- 23,61 % des patients positifs à ANA positif ont eu une identification des cibles antigénique négative.
- Les anticorps anti-SSA sont prédominants avec un pourcentage de (4,16%). On notera qu'on a trouvé que les anticorps anti-SSA sont présents chez des patients atteint des

maladies lupique et dans les polyarthrites et polyarthralgies, et le syndrome de Gougerot.

- Les anticorps anti SSA/SSB avec un pourcentage de (2,78%) présent dans les polyarthralgies et le syndrome de Gougerot.
- Les anticorps anti Smassocié au anti Sm /Rnp avec un pourcentage de (2,78%) présent dans les vascularites et les maladies lupiques.
- Les anticorps anti- SSA associé au anti Sm/Rnp avec un pourcentage de (1,39%) présent dans les maladies lupiques et les vascularites.
- Les anticorps anti -SSA associé à l’anti -SSB et l’anti –Sm/Rnp avec un pourcentage de (1,39%) présent dans le syndrome de Gougerot (**Tableau XXIII**).

Tableau XXIII : Répartitions des patients selon leur profil en anticorps Anti-ENA.

	Auto-anticorps	Effectif (n=72)	Pourcentage %(100%)
	Anti-SSA	3	4,16%
	Anti-SSB	0	0%
	Anti-Sm	0	0%
	Anti Sm/RNP	0	0%
	Anti Scl-70	0	0%
	Anti Jo-1	0	0%
Association des auto-anticorps	SSA/SSB	2	2,78%
	SSA, Sm /Rnp	1	1,39%
	Sm, Sm /Rnp	2	2,78%
	SSA, SSB,Sm /Rnp	1	1,39%
	Absence d’auto-anticorps	63	87,5%

Discussion

Les anticorps antinucléaires constituent des éléments de diagnostic des connectivites.

L'utilisation de cet outil immunologique par les laboratoires de biologie médicale pour l'exploration de ces pathologies nécessite une connaissance des caractéristiques de la population cible pour garantir une interprétation optimale et fiable des résultats obtenus.

Notre étude a inclus 160 patients, 88 patients pour l'étude rétrospective et 72 patients pour l'étude prospective, présentant des signes cliniques. Une première étude basée sur les signes cliniques a montré que la répartition des patients selon l'âge montre que les tranches d'âge les plus affectées par les connectivites sont celles comprises entre 30-39 et 40-49 avec une fréquence respectivement de 19,44% et 23,66%. Par ailleurs, notre étude montre que la prédominance de ces pathologies chez les femmes. Ces résultats concordent avec l'étude de **Tojemen et al. (en 2019)**, qui montre cette prédominance féminine dans la maladie cœliaque, avec 32 femmes touchées contre seulement 12 hommes. Les femmes sont nettement défavorisées face aux maladies auto-immunes. En cause, les hormones féminines telle que l'œstrogène, mais aussi les facteurs toxiques notamment ceux présents dans les vernis à ongles et les colorants capillaires [22].

Outre le sexe et l'âge, des facteurs environnementaux peuvent jouer un rôle dans la production d'anticorps anti-nucléaires. Des études incriminent la fumée de tabac, la silice et divers produits chimiques tels les bi-phényles poly-chlorés, les polluants organiques persistants (POP), le benzène, l'amiante, et le mercure. De plus, la carence en vitamine D dans le corps des patients est corrélée à la survenue de ces anticorps [21].

Nous nous sommes intéressés à la prévalence de certaines connectivites dans notre cohorte de patients ayant consulté le service d'immunologie au CHU de Tizi-Ouzou. Nos résultats montrent une prédominance de la connectivite mixte, suivie du lupus et enfin de la polyarthrite avec une fréquence de 15,91%. L'ensemble de ces résultats concernent aussi bien l'étude rétrospective que prospective.

En fonction des atteintes cliniques évoquées, diverses connectivites ont été suspectées justifiant la demande d'un bilan en auto-anticorps antinucléaires (ANA). Cependant, il est nécessaire de signaler que la présence de ces auto-anticorps n'est pas forcément associée aux maladies. En effet, l'exploration des associations cliniques aux différents auto-anticorps antinucléaires ouvre un grand débat à propos de leur valeur diagnostique. Les données recueillies montrent la possibilité de retrouver de façon non spécifique les divers auto-

anticorps en présence de différentes atteintes cliniques et donc en association avec plusieurs suspicions de diagnostic [75]. A titre d'exemple, l'anticorps anti-SSA requiert une attention particulière vue sa prédominance remarquée en association avec plusieurs manifestations cliniques. Il est de ce fait, essentiel d'établir des confrontations clinico-immunologiques pour établir un diagnostic final fiable.

Plusieurs techniques sont utilisées dans le diagnostic des connectivites, parmi elles la technique d'ELISA. Ainsi, nous avons réalisé une étude pour mettre en évidence les avantages et inconvénients de l'utilisation cette technique dans l'exploration immunologique des connectivites. En effet, cette étude a été initiée au niveau du laboratoire d'Immunologie du CHU de Tizi-Ouzou sur des sérums de patients présentant des symptômes de ces pathologies. Ainsi l'objectif de notre étude est de vérifier l'aptitude et la suffisance de cette technique à fournir des résultats concrets et fiables au cours de l'exploration immunologique des connectivites.

Nos données montrent que parmi les 88 patients présentant des signes cliniques de connectivites, seuls 34 patients correspondant à une fréquence de 38,63% étaient positifs après réalisation du test de screening avec la technique ELISA.

Par ailleurs, nous avons analysé la présence de connectivites chez les femmes par un test de screening par la technique ELISA. Nos résultats montrent que sur les 71 femmes présentant des signes cliniques seules 29 femmes correspondant à une fréquence de 40,85% étaient positives. Sur le plan immunologique, le taux d'anticorps anti-ADN chez des patients est de 4,17%. Ce taux est faible par rapport à celui décrit dans des études européennes et africaines où leur fréquence variait de 48,40% à 79%. Les anti-SSA étaient présents chez 4,16% des patients, un titre faible par rapport à celui décrit dans les mêmes séries.

Dans notre étude beaucoup d'associations des anticorps anti-ENA ont été retrouvées. En effet, chez un patient on a retrouvé deux voire trois types d'anticorps anti ENA.

Contrairement à nos résultats, dans l'étude de **C. Fitch Rogalsky**, des fréquences élevées en anticorps anti-SSA ont été retrouvées chez les patients avec la technique ELISA (**Tableau XXIV**). Ainsi, d'après nos résultats nous pouvons conclure que la sensibilité du test ELISA n'est pas suffisante pour une utilisation optimale dans le diagnostic des connectivites.

Tableau XXIV : Comparaison des fréquences des anticorps anti ENA de notre série avec l'étude canadienne de C.Fitch Rogalsky.

Auto-anticorps	Notre étude	Etude de C. Fitch-Rogalsky(Canada)
Anti-SSA	4,16%	Ro52/TRIM21 :45.7% SSA/Ro6 :34,5%
Anti-AND	4,17%	13,2%
Anti-SSB	0%	16,4%
Anti-Sm-RNP	0%	14,7%
Anti-Sm	0%	12,1%
Anti-Scl-70	0%	14,7
Anti-JO1	0%	2,6%

La sensibilité diminuée de l'ANA-ELISA peut être due aux facteurs suivants :

- ✓ La nature des antigènes : les antigènes utilisés sont des antigènes purifiés et non pas natifs.
- ✓ Les antigènes présentés dans ce test sont limités à ceux avec la valeur diagnostique définie ADN db, histones, Sm/RNP, SSa, SSB, Scl70, centromère, PCNA, Jo-1(les anticorps à cible antigénique non identifiée ne sont pas détectés).

Dans notre population, 66,67% des patients ne présentaient pas d'ANA après analyse des sérums par la technique d'ELISA. Ces patients ont probablement un faible taux d'anticorps qui n'ont été détectés par l'ANA-ELISA. Il en ressort ainsi, que cette technique ne constitue pas un bon outil de diagnostic des connectivites. Il est de ce fait, nécessaire d'utiliser d'autres méthodes et d'assurer un suivi périodique des patients par mesure de prévention pour ne pas atteindre un stade de complications.

Par ailleurs, il est utile de signaler que sur les 17 patients (23,61%) positifs à l'étape de screening, aucun n'était positif suite par le test d'identification.

Feki et al. (en 2012) ont montré l'intérêt diagnostique des AAN même en l'absence de spécificité antigénique connue. En effet, un tiers de patients AAN positifs à spécificité non identifiée avaient un diagnostic retenu d'une connectivite. Cette étude confirme aussi la place

de l'IFI comme examen de référence pour la recherche d'AAN. Cette technique est plus sensible pour des AAN non identifiables par le test ANA-ELISA qui repose uniquement sur une détection d'antigènes identifiés purifiés. Elle permet aussi un dépistage d'anticorps antinucléaires par l'immunofluorescence indirecte permet de mettre en évidence différents aspects orientant vers les diverses cibles possibles et ainsi d'améliorer l'interprétation des résultats.

Avantages et inconvénients de la technique ELISA

Tableau XXV : Les avantages et les inconvénients de la technique ELISA.

Les avantages	Les inconvénients
Technique simple et facile.	Manque de concentration de manipulateur par exemple remplie même puits 2 fois ou par 2 sérum défèrent.
Technique manuelle et accessible à tous les biologistes.	L'intensité de coloration diminue par le temps ce qui donne des résultats faussement négatifs
Très rapide	Problème de spectrophotomètre, le manque d'entretien diminue l'efficacité de test.
Gestion informatisé des résultats.	Influencée par la nature et la qualité de l'antigène.
La réalisation rapide de grandes séries d'analyses donc économique de temps.	Grande divergence des résultats avec les différents kits commerciaux disponible.

Conclusion

Les connectivites sont un ensemble de maladies auto-immunes qui se caractérisent par une hétérogénéité clinique et biologique extrême. Elles sont caractérisées par un marqueur immunologique, qui est la présence d’anticorps anti nucléaires, éléments de nécessaires dans l’exploration immunologique de ces maladies.

Afin de poser un diagnostic avec exactitude, il est recommandé de s’assurer de la fiabilité des résultats fournis par les différentes techniques utilisées lors de l’exploration immunologique de ces pathologies.

Au cours de notre étude prospective qui s’est déroulée au niveau au niveau du laboratoire d’immunologie du centre hospitalo-universitaire de Tizi-Ouzou, la recherche des AAN par la technique ANA-ELISA a montré que cette dernière n’est pas un bon outil de diagnostic des connectivites. En effet, nos données montrent que parmi les 72 patients présentant des signes cliniques de connectivites, seuls 24 patients correspondant à une fréquence de 33,33% étaient positifs après réalisation du test de screening avec la technique ELISA.

Ainsi, la recherche d’auto-anticorps doit être confiée à un laboratoire capable de mettre en œuvre l’ensemble des techniques nécessaires à leur détection et leur identification. Tout résultat doit être interprété en fonction de contexte clinique, d’où la nécessité d’une confrontation immunoclinique des résultats obtenus.

Références bibliographiques

- [1] C. Gabay and A. So, “Les connectivites, une affaire de spécialistes,” *Rev Med Suisse*, vol. 9, pp. 539–540, 2013.
- [2] M. Walravens, “Systemic diseases and the detection of antinuclear and anticytoplasmic antibodies. An historical review,” *Clin. Rheumatol.*, vol. 6, no. 1, pp. 9–17, 1987.
- [3] M. Plebani, M. Pittoni, M. Celadin, D. Bernardi, and M. M. Mion, “Recent advances in diagnostic technologies for autoimmune diseases,” *Autoimmun. Rev.*, vol. 8, no. 3, pp. 238–243, 2009.
- [4] S. Petitpierre, V. Aubert, A. Leimgruber, F. Spertini, and P. A. Bart, “Utilité de la recherche des autoanticorps dans la pratique quotidienne,” *Rev Med Suisse*, vol. 5, pp. 823–831, 2009.
- [5] J. L. Laloux, “Nouvelles recommandations pour le dépistage des anticorps antinucléaires.” Elsevier Masson, 2010.
- [6] J. Sibilia, “Auto-anticorps: intérêt diagnostique et pronostique en réanimation médicale,” *Réanimation*, vol. 11, no. 5, pp. 349–358, 2002.
- [7] D. Lakomy and J. Goetz, “Comment interpréter un résultat d’auto-anticorps? Les pièges diagnostiques,” *Rev. Francoph. des Lab.*, vol. 484, no. 2016, pp. 18–21, 2016.
- [8] B. FATIMA and B. MERIEM, “La détection des auto-anticorps antinucléaires dans les maladies auto-immunes systémiques”.
- [9] N. Gleicher and D. H. Barad, “Gender as risk factor for autoimmune diseases,” *J. Autoimmun.*, vol. 28, no. 1, pp. 1–6, 2007.
- [10] M. C. M. Nahla and H. Yacin, “Pathologies auto-immunes: aspect, épidémiologiques, diagnostiques, principes du traitement.”, 2017.
- [11] D. McGonagle and M. F. McDermott, “A proposed classification of the immunological diseases,” *PLoS Med.*, vol. 3, no. 8, p. e297, 2006.
- [12] B. Arnulf *et al.*, *Immunopathologie: Réussir les ECNi*. Elsevier Health Sciences, 2018.
- [13] L. Mouthon, “Épidémiologie, classification des connectivites,” *JMV-Journal Médecine Vasc.*, vol. 43, no. 2, p. 74, 2018.
- [14] D. D. Ouédraogo *et al.*, “Les connectivites en pratique hospitalière à Ouagadougou (Burkina Faso),” *Med. Sante Trop.*, vol. 24, no. 3, pp. 271–274, 2014.
- [15] P. Dieudé, E. Lazaro, and C. Richez, “Physiopathologie du lupus érythémateux,” in *Lupus érythémateux*, Elsevier, 2013, pp. 7–39.
- [16] H. T. Cook, “Déficit en complément, maladie lupique et apoptose,” *Actual. néphrologiques Jean Hamburg.*, pp. 37–47, 2001.
- [17] N. Abuaf *et al.*, *Immunologie fondamentale et immunopathologie: Enseignements*

- thématique et intégré-Tissu lymphoïde et sanguin/Immunopathologie et immuno-intervention.* Elsevier Health Sciences, 2018.
- [18] P. MIOSSEC, “Pathologies auto-immunes: Aspects épidémiologiques, diagnostiques et principes de traitement,” *La Rev. du Prat.*, vol. 54, no. 19, pp. 2187–2193, 2004.
- [19] T. A. Manolio *et al.*, “Finding the missing heritability of complex diseases,” *Nature*, vol. 461, no. 7265, pp. 747–753, 2009.
- [20] I. Delévaux, A. Chamoux, and O. Aumaître, “Stress et auto-immunité,” *La Rev. Med. interne*, vol. 34, no. 8, pp. 487–492, 2013.
- [21] M. M. Freemer, T. E. King, and L. A. Criswell, “Association of smoking with dsDNA autoantibody production in systemic lupus erythematosus,” *Ann. Rheum. Dis.*, vol. 65, no. 5, pp. 581–584, 2006.
- [22] N. Lopes, P. Ferrier, and M. Irla, “Induction de la tolérance centrale dans le thymus par le facteur de transcription Aire,” *médecine/sciences*, vol. 31, no. 8–9, pp. 742–747, 2015.
- [23] F. Macian, “Autophagy in T cell function and aging,” *Front. Cell Dev. Biol.*, vol. 7, p. 213, 2019.
- [24] T. Papo, “Interféron alpha et auto-immunité,” *La Rev. médecine interne*, vol. 23, pp. 501S-510S, 2002.
- [25] R. Zhang, *The epigenetics of autoimmunity*, vol. 5. Academic Press, 2018.
- [26] O. Meyer, “Lupus érythémateux systémique,” *EMC-Rhumatologie-Orthopédie*, vol. 2, no. 1, pp. 1–32, 2005.
- [27] J. C. Piette, Z. Amoura, and C. Francès, “Lupus érythémateux systémique-Syndrome des anti-phospholipides,” *Rev Prat*, vol. 53, pp. 2175–2182, 2003.
- [28] Z. Amoura and J.-C. Piette, “Le lupus érythémateux systémique: aspects cliniques,” *Médecine thérapeutique*, vol. 6, no. 7, pp. 547–553, 2000.
- [29] D. Mamane *et al.*, “Aspects épidémiologique, clinique, thérapeutique et évolutif du lupus érythémateux systémique à Niamey,” *Rev. Africaine Médecine Interne*, vol. 9, no. 1, pp. 22–29, 2022.
- [30] M. Cojocar, I. M. Cojocar, I. Silosi, and C. D. Vrabie, “Manifestations of systemic lupus erythematosus,” *Maedica (Buchar).*, vol. 6, no. 4, p. 330, 2011.
- [31] J. Buxeraud, “Le lupus érythémateux systémique,” *Actual. Pharm.*, vol. 55, no. 560, pp. 45–47, 2016.
- [32] M. MICHEL *et al.*, “Familial lupus erythematosus: clinical and immunologic features of 125 multiplex families,” *Medicine (Baltimore).*, vol. 80, no. 3, pp. 153–158, 2001.

- [33] A. Mathian, L. Arnaud, and Z. Amoura, “Physiopathologie du lupus systémique: le point en 2014,” *La Rev. médecine interne*, vol. 35, no. 8, pp. 503–511, 2014.
- [34] L. Guillevin, “Immunosuppressive and immunomodulator treatment of severe systemic lupus,” in *Annales de Medecine Interne*, 1996, vol. 147, no. 7, pp. 498–505.
- [35] J. Chemli and A. Harbi, “Traitement du syndrome néphrotique idiopathique corticorésistant,” *Arch. pédiatrie*, vol. 16, no. 3, pp. 260–268, 2009.
- [36] A. Abbasse, “Primary Gougerot-Sjögren’s Syndrome Revealed by an Ischemic Stroke in A Premenopausal Woman: A Case Report with Review of the Literature,” *Sch J Med Case Rep*, vol. 5, pp. 581–586, 2021.
- [37] M. Margaix-Muñoz, J. V Bagán, R. Poveda, Y. Jiménez, and G. Sarrión, “Sjögren’s syndrome of the oral cavity. Review and update,” *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, vol. 14, no. 7, pp. E325-30, 2009.
- [38] A. Liapi, A. Horisberger, F. Spertini, and C. Ribl, “Syndrome de Sjögren: quand le suspecter et comment le confirmer?,” *Rev Med Suisse*, vol. 12, pp. 698–702, 2016.
- [39] A. Hamzaoui *et al.*, “Le syndrome de Goujerot-Sjögren juvénile: à propos de 3 cas,” *Arch. pédiatrie*, vol. 17, no. 11, pp. 1531–1534, 2010.
- [40] P. Tschoppe, M. Wolgin, N. Pischon, and A. M. Kielbassa, “Etiologic factors of hyposalivation and consequences for oral health.,” *Quintessence Int. (Berl.)*, vol. 41, no. 4, 2010.
- [41] F. Hakkou, S. Chbicheb, and W. El Wady, “Syndrome de Gougerot-Sjögren: manifestations buccales et prise en charge,” *Médecine Buccale Chir. Buccale*, vol. 17, no. 4, pp. 323–330, 2011.
- [42] G. Le Mélédo and S. Jousse-Joulin, “Échographie des glandes salivaires en rhumatologie,” *Rev. du Rhum. Monogr.*, vol. 88, no. 4, pp. 274–278, 2021.
- [43] K. Bayetto and R. M. Logan, “Sjögren’s syndrome: a review of aetiology, pathogenesis, diagnosis and management,” *Aust. Dent. J.*, vol. 55, pp. 39–47, 2010.
- [44] C. Martel, M.-O. Jauberteau, E. Vidal, and A.-L. Fauchais, “Physiopathologie du syndrome de Gougerot-Sjögren primitif,” *La Rev. Médecine Interne*, vol. 35, no. 8, pp. 524–530, 2014.
- [45] C. P. Mavragani and H. M. Moutsopoulos, “Sjögren syndrome,” *Cmaj*, vol. 186, no. 15, pp. E579–E586, 2014.
- [46] J. Morel, P. Miossec, and B. Combe, “Immunopathologie de la polyarthrite rhumatoïde,” *EMC-Rhumatologie-Orthopédie*, vol. 1, no. 3, pp. 218–230, 2004.
- [47] B. Combe, “Polyarthrite rhumatoïde: clinique et diagnostic,” *Etudes (Paris)*, 2007.

- [48] L. Delay, “La douleur chronique articulaire dans la polyarthrite rhumatoïde: rôle des canaux ASIC3 dans l’athralgie induite par les ACPA et des voies de signalisation NGF/TrkA dans la douleur chronique inflammatoire.” Université Clermont Auvergne, 2018.
- [49] E. Minichiello, L. Semerano, and M.-C. Boissier, “Incidence, prévalence et sévérité de la polyarthrite rhumatoïde au XXI^e siècle,” *Rev. du Rhum. Monogr.*, vol. 84, no. 4, pp. 303–310, 2017.
- [50] D. Hoy *et al.*, “The global burden of neck pain: estimates from the global burden of disease 2010 study,” *Ann. Rheum. Dis.*, vol. 73, no. 7, pp. 1309–1315, 2014.
- [51] J. Foucaud, J. Bury, M. Balcou-Debussche, and C. Eymard, *Éducation thérapeutique du patient: modèles, pratiques et évaluation*. Inpes, 2010.
- [52] J. Sany, *Polyarthrite rhumatoïde de l’adulte: conception actuelle*. John Libbey Eurotext, 2003.
- [53] M. FERIEL, B. AMIRA, and A. YASSAMINE, “Etude épidémiologique de la polyarthrite rhumatoïde sur la région Est d’Algérie (Guelma),” 2020.
- [54] J. W. J. Bijlsma and J. W. G. Jacobs, “Glucocorticoids in the treatment of rheumatoid arthritis: still used after 65 years,” *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, vol. 1318, no. 1, pp. 27–31, 2014.
- [55] P.-A. Guerne, “Myosites: données actuelles sur la classification, le diagnostic et le traitement,” *Rev. Med. Suisse*, no. 149, pp. 718–727, 2008.
- [56] N. Kaddour, M. Frigui, A. Zayen, R. Akrouf, S. Marzouk, and Z. Bahloul, “Les aspects cliniques et le pronostic des dermatomyosites et des polymyosites du Sud tunisien,” *La Rev. médecine interne*, no. 29, p. S357, 2008.
- [57] S. Bernatsky *et al.*, “Estimating the prevalence of polymyositis and dermatomyositis from administrative data: age, sex and regional differences,” *Ann. Rheum. Dis.*, vol. 68, no. 7, pp. 1192–1196, 2009.
- [58] G. Brinchault, V. Morel, S. Guillot, H. Léna, and P. Delaval, “Myopathies inflammatoires idiopathiques et atteintes pulmonaires,” *La Lett. du Pneumol.*, vol. 6, no. 6, pp. 223–230, 2003.
- [59] A. Urbano-Marquez, J. Casademont, and J. M. Grau, “Polymyositis/dermatomyositis: the current position,” *Ann. Rheum. Dis.*, vol. 50, no. 3, p. 191, 1991.
- [60] F. Camille, A. Nakhle, and B. Stéphane, “Comment reconnaître une sclérodermie. Les sclérodermies,” *Rev Prat*, vol. 52, pp. 1884–1890, 2002.
- [61] E. Hachulla and D. Launay, “Sclérodermie systémique,” *EMC-Rhumatologie-*

- Orthopédie*, vol. 2, no. 5, pp. 479–500, 2005.
- [62] I. Marie, “Pathogenesis of scleroderma,” *Rev. Prat.*, vol. 52, no. 17, pp. 1873–1881, 2002.
- [63] M. C. AGATI, “COMMUNICATION MEDICALE ENTRE MEDECINS SPECIALISTES ET MEDECINS GENERALISTES AU SUJET DE PATIENTS ATTEINTS DE SCLERODERMIE SYSTEMIQUE EN BOURGOGNE,” 2018.
- [64] M. PELLETIER and C. RICARD, “LA SCLÉRODERMIE SYSTÉMIQUE,” *Perspect. Infirm.*, vol. 38, 2011.
- [65] P. Legendre and L. Mouthon, “Hypertension artérielle pulmonaire des connectivites,” *Presse Med.*, vol. 43, no. 9, pp. 957–969, 2014.
- [66] F. de S. M. Rares, “Protocole National de Diagnostic et de Soins (PNDS),” 2016.
- [67] S. BACHA, K. HAMADACHE, and L. BERDOUS, “Profil en auto-anticorps anti-nucléaires dans la sclérodémie systémique,” 2020.
- [68] Y. Allanore, “Physiopathologie de la sclérodémie systémique,” *médecine/sciences*, vol. 32, no. 2, pp. 183–191, 2016.
- [69] Y. Allanore and A. Kahan, “Traitement de la sclérodémie systémique,” *Rev. Rhum.*, vol. 73, no. 7, pp. 673–679, 2006.
- [70] V. Sobanski *et al.*, “Connectivite mixte (syndrome de Sharp) et hypertension pulmonaire,” *La Rev. Med. interne*, no. 34, pp. A45–A46, 2013.
- [71] J. Chemli, T. Yacoubi, I. Guedira, M. Jeddi, S. Korbi, and A. Harbi, “Connectivite mixte révélée par une méningite lymphocytaire chronique chez un nourrisson,” *Arch. pédiatrie*, vol. 11, no. 2, pp. 126–129, 2004.
- [72] E. Perrin, A. Leimgruber, F. Spertini, and P.-A. Bart, “Connectivite Mixte: mise au point,” *Med. Hyg. (Geneve)*, pp. 823–829, 2003.
- [73] E. Branlant-Redon, “Syndrome de Sharp ou connectivité mixte. Description clinique, biologique, immunopathologique et approche thérapeutique: A propos de trois observations.” UHP-Université Henri Poincaré, 2009.
- [74] C. Goulvestre, “Antinuclear antibodies,” *Press. Medicale (Paris, Fr. 1983)*, vol. 35, no. 2 Pt 2, pp. 287–295, 2006.
- [75] A. Chevailler, C. Beauvillain, and F. Carrère, “Dépistage des anticorps dirigés contre les antigènes nucléaires solubles,” *Rev. Francoph. des Lab.*, vol. 2006, no. 384, pp. 59–70, 2006.
- [76] J.-F. Bach, “Immunorégulation et auto-immunité,” *J. Soc. Biol.*, vol. 196, no. 4, pp. 255–258, 2002.

- [77] C. Emile, “Dosage des auto-anticorps et interprétation,” *Option/Bio*, vol. 28, no. 565–566, pp. 17–24, 2017.
- [78] K. Lassoued, P. Coppo, and V. Gouilleux-Gruart, “Place des anticorps antinucléaires en pratique clinique?,” *Réanimation*, vol. 14, no. 7, pp. 651–656, 2005.
- [79] T. Guerrier, S. Jousse, M. Dueymes, P. Youinou, and Y. Renaudineau, “Anticorps anti- α -actinine et anticorps anti-C1q: deux nouveaux «marqueurs» pour la glomérulonéphrite lupique,” *Immuno-analyse Biol. Spécialisée*, vol. 22, no. 3, pp. 195–201, 2007.
- [80] A. Lerner ., “The thrombophilic network of autoantibodies in celiac disease,” *BMC Med.*, vol. 11, no. 1, pp. 1–7, 2013.
- [81] K. M. Pollard, *Autoantibodies and autoimmunity: molecular mechanisms in health and disease*. John Wiley & Sons, 2006.
- [82] F. Hiepe, “Autoantibodies in systemic lupus erythematosus,” *Autoantibodies Autoimmun. Mol. Mech. Heal. Dis. Wiley-VCH, Weinheim*, pp. 247–276, 2006.
- [83] F. Fernandez-Madrid and M. Mattioli, “Antinuclear antibodies (ANA): immunologic and clinical significance,” in *Seminars in arthritis and rheumatism*, 1976, vol. 6, no. 2, pp. 83–124.
- [84] P. Oppezzo and G. Dighiero, “Autoanticorps, tolérance et auto-immunité,” *Pathol. Biol.*, vol. 51, no. 5, pp. 297–304, 2003.
- [85] A. Pardon, V. Aubert, and P. A. Bart, “Biomarqueurs en immunologie,” *Rev Med Suisse*, vol. 9, pp. 1982–1991, 2013.
- [86] N. Benseffaj, O. Atouf, S. Ouadghiri, C. Brick, and M. Essakalli, “Valeur diagnostique des auto-anticorps dans les maladies auto-immunes,” *Immuno-analyse Biol. Spécialisée*, vol. 27, no. 5, pp. 233–236, 2012.
- [87] L. Liu and L. Wang, “HEp-2 cell image classification with multiple linear descriptors,” *Pattern Recognit.*, vol. 47, no. 7, pp. 2400–2408, 2014.
- [88] S. HAROUS, M. BOURNINE, S. OUSAID, and M. L. SADOU, “Evaluation de la technique ELISA appliquée à l’exploration immunologique des connectivites,” 2020.
- [89] C. Johanet, Y. Chantran, and E. Ballot, “Auto-anticorps et pathologies hépatiques,” *Rev. Francoph. des Lab.*, vol. 2017, no. 490, pp. 45–55, 2017.
- [90] B. Terrier and L. Mouthon, “Les auto-anticorps en pratique clinique,” *Rev. Mal. Respir.*, vol. 23, no. 6, pp. 743–745, 2006.
- [91] R. M. Lequin, “Enzyme immunoassay (EIA)/enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA),” *Clin. Chem.*, vol. 51, no. 12, pp. 2415–2418, 2005.

- [92] S. Feki *et al.*, “Prévalence et valeur diagnostique des anticorps antinucléaires de spécificité antigénique indéterminée: étude rétrospective à propos d’une série de 90 patients,” *La Rev. médecine interne*, vol. 33, no. 9, pp. 475–481, 2012.

Annexes

Annexe 2: Tableau de patients (étude rétrospective)

N° dossier	âge	sexe	clinique	AAN	DNA	ENA6
4456	3	F	lupus érythémateux	négatif (5.88)		
4463	4	H	lupus érythémateux	négatif (5.88)		
4481	20	F	lupus érythémateux	Positif (#valeur)	687.3	SSA+
4489	52	F	connectivite mixte	Positif (#valeur)	10.17	SSA+/SCL70+
4499	13	H	lupus érythémateux	Positif (128.92)	6.35	négatif
4500	23	F	sclérodemie systémique	négatif (19.9)		
4505	50	F	SAPL	Positif (111.46)	216.12	négatif
4516	7	F	lupus érythémateux	négatif (8.03)		
4518	8	F	lupus érythémateux	positif (34.46)	négatif13.69	négatif
4523	20	H	connectivite mixte	Positif (41.33)	24	SSA 72
4530	55	H	Syndrome de Gougerot sjogren	Positif (#valeur)		SSA72/SSB 41
4535	62	F	SAPL	Positif (#valeur)		SSA 568
4536	81	F	SAPL	Positif (#valeur)	35	SSA 13
4539	56	F	SAPL	Négatif (6.90)		
4540	53	F	Polyarthralgie	Négatif (9.51)		
4544	50	F	connectivite mixte	Négatif(8.19)		
4548	32	F	connectivite mixte	Négatif(11.92)		
4555	70	F	Polyarthrite	Positif(101.78)	21	
4590	44	F	connectivite mixte	Positif(#valeur)	22	SSA78/SSB41
4599	23	F	lupus érythémateux	Positif(#valeur)		SSA25
4600	29	F	lupus érythémateux	Positif(#valeur)	négatif(39)	SSA++/SSB++
4610	40	F	connectivite mixte	négatif(14)		
4612	71	H	SAPL	Négatif(16.8)		
4618	26	F	Polyarthralgie	négatif(8)		

4620	43	F	Polyarthralgie	positif(68)	négatif(13)	
4622	11	H	Polymyosite	Négatif(13.5)		
4628	40	F	Polyarthrite	Négatif(11.8)		
4630	51	F	Polyarthralgie	Positif		SSA65
4631	70	F	connectivite mixte	Négatif(5.3)		
4632	49	F	Polyarthrite	Négatif(10.7)		
4634	40	F	Polyarthralgie	Négatif(11.5)		
4637	66	F	connectivite mixte	positif(56)	3.79	
4640	28	F	lupus érythémateux	positif(109)		
4641	39	F	SAPL	Négatif(5.3)		
4642	39	F	Polyarthralgie	Positif(#valeur)	20	SSA80
4646	70	F	connectivite mixte	Positif(#valeur)	3.61	SSA+/SSB+
4654	30	F	Polyarthralgie	Négatif(10.5)		
4660	12	F	Polyarthrite	positif(21)		
4663	55	F	SAPL	Positif(#valeur)	3.36	
4671	33	F	lupus érythémateux	Positif(#valeur)	2.28	SM+SM/RNP+
4673	48	H	lupus érythémateux	négatif(14)		
4677	48	F	connectivite mixte	Négatif(7.7)		
4694	27	F	Polyarthralgie	négatif(13)		
4699	44	F	Polyarthrite	Négatif(6.4)		
4700	37	H	Polyarthrite	négatif(13)		
4701	43	F	Polyarthralgie	négatif(13)		
4702	38	H	connectivite mixte	Positif(#valeur)	5	SSA+/SSB+
4703	60	F	connectivite mixte	Négatif(9.3)		
4704	52	F	connectivite mixte	Positif(#valeur)		
4705	34	H	Polyarthralgie	Négatif(8.3)		
4706	74	F	Polyarthrite	Négatif(8.07)		
4707	49	F	Polyarthralgie	négatif(15)		
4710	45	F	connectivite mixte	Positif(#valeur)	Négatif(4.17)	SSA+
4711	34	F	Polyarthralgie	Négatif(9.4)		
4712	74	F	Polyarthrite			
4718	56	F	Polyarthralgie	Négatif(11.9)		
4722	34	F	polyarthralgie	Négatif(13.14)		

4780	24	F	SAPL	Positif(#valeur)	négatif	Négatif
4799	30	F	Polyarthrite	Négatif(15.12)		
4804	12	H	Polyarthrite	Positif(22.8)		
4806	11	H	Polymyosite	Négatif(15.12)		
4807	70	F	Polyarthralgie	Négatif(7.2)		
4811	46	F	lupus érythémateux	Positif(21.4)	<<<	Négatif
4814	28	F	connectivite mixte	Négatif(9.26)		
4818	71	F	connectivite mixte	Positif(#valeur)	Négatif (4.01)	
4825	43	F	connectivite mixte	Négatif(10.85)		
4826	41	F	connectivite mixte	Positif(#valeur)	<<<	SSA/SSB+
4827	67	F	Polyarthralgie	Négatif(16.15)		
4830	34	F	Polyarthrite	Positif(#valeur)	<<<	SSA
4831	50	F	connectivite mixte	Négatif(16.67)		
4832	35	F	Polyarthralgie	négatif (18.05)		
4833	67	H	Polyarthrite	négatif (14.27)		
4834	71	H	Polyarthrite	Négatif(17.32)		
4837	53	H	Polyarthralgie	Négatif(11.89)		
4847	41	F	Polyarthralgie	Négatif(7.05)		
4850	53	H	Polyarthralgie	Négatif(6.29)		
4853	13	F	connectivite mixte	Négatif(12.66)		
4863	56	F	Polyarthralgie	Positif(21.59)	7.02	SSA+/SSB+
4881	16	F	lupus érythémateux	Positif(#valeur)	Positif(885.5)	SM+SM/RNP+
4885	22	F	lupus érythémataux	Négatif(14.94)		
4889	63	F	lupus érythémateux	Positif(#valeur)	Négatif(20.29)	SSA+
4907	76	F	Polyarthrite	Négatif(13.9)		
4927	33	F	connectivite mixte	Négatif(15.86)		
4928	33	F	connectivite mixte	Négatif(14.7)		
4933	56	F	connectivite mixte	Négatif(6.83)		
4938	27	F	connectivite mixte	Négatif(5.4)		
4942	3	H	lupus érythémateux	Négatif(6.88)		
4970	49	F	Polyarthralgie	Négatif(7.04)		

Annexe 3 : Tableau des patients (étude prospective)

n° dossier	âge	Sexe	clinique	AAN	DNA	ENA6
5020	7	H	LUPUS	11.88		
5024	63	H	POLYARTHRALGIE INFLAMMATOIRE	6.29		
5031	42	F	POLYARTHRALGIE INFLAMMATOIRE	110.6	9.91	SSA/SmRNP+
5037	58	H	POLYARTHRALGIE INFLAMMATOIRE	9.83		
5038	43	F	POLYARTHRITE CHRONIQUE	16.51		
5039	50	F	POLYARTHRALGIE INFLAMMATOIRE	8.45		
5040	35	H	POLYARTHRALGIE INFLAMMATOIRE	7.81		
5041	64	F	POLYARTHRALGIE INFLAMMATOIRE	10.58		
5043	14	F	POLYARTHRALGIE DIFFUSE	13.03		
5047	56	F	POLYARTHRALGIE	>>	<<	NEGATIF
5048	9	H	POLYARTHRALGIE	14.86		
5053	A	F	POLYARTHRALGIE INFLAMMATOIRE	11.49		
5057	67	F	ARTHRALGIE	15.9		
5062	60	H	POLYARTHRITE	16.42		
5068	46	F	ARTHRALGIE	19.32		
5069	33	H	LED+SAPL	>>	29	NEGATIF
5070	37	F	LUPUS	17.9		
5071	61	F	LUPUS	>>	7.27	SSA+
5084	11	F	ARTHRALGIE	157.8	2.9	SSA/SSB+
5093	53	F	POLYARTHRALGIE	9.32		
5099	A	F	ARTHRALGIE INFLAMMATOIRE	>>	530	SSA+SSB+
5113	27	F	LUPUS	>>	171	SM+/SMRNP+
5124	39	F	VASCULARITE	27.33		
5138	36	H	POLYARTHRALGIE	21.66		
5140	64	H	POLYMYOSITE	117.66	NEGATIF	4.39
5141	55	H	POLYARTHRALGIE INFLAMMATOIRE	79.88	3.98	NEGATIF
5144	69	F	POLYARTHRALGIE INFLAMMATOIRE	27		

5146	72	F	POLYARTHRITE CHRONIQUE	179.2	17.64	SSA
5147	53	F	POLYARTHRITE CHRONIQUE	310.11	4.70	
5148	71	H	POLYARTHRITE CHRONIQUE	95.56	2.80	NEGATIF
5149	39	F	LUPUS	83.33	3.68	NEGATIF
5150	60	F	POLYARTHRITE	10.11		
5151	71	F	POLYARTHRALGIE	39.77	2.71	NEGATIF
5154	55	F	POLYARTHRITE CHRONIQUE	23.88		
5155	50	F	POLYARTHRALGIE INFLAMMATOIRE	237.5	23.25	SSA
5161	52	F	POLYARTHRALGIE	25.27	5.52	NEGATIF
5167	35	F	POLYARTHRALGIE INFLAMMATOIRE	9.8		
5168	40	F	SD DE GOUGEROT	>>		SSA+SSB+SM/RNP+
5169	42	F	VASCULARITE	11.07		
5185	43	F	POLYARTHRALGIE INFLAMMATOIRE	4.9		
5188	14	H	VASCULARITE	>>	1049	SM+/SMRNP+
5200	67	F	SD DE GOUGEROT	95.87	5.43	NEGATIF
5203	3	H	ARTHRALGIE	12.65		
5204	6	F	POLYARTHRITE	6.38		
5205	73	F	POLYARTHRITE CHRONIQUE	12.14		
5206	50	F	POLYARTHRITE	6.38		
5207	40	F	POLYARTHRITE	5.03		
5208	38	F	POLYARTHRITE CHRONIQUE	5.7		
5209	25	H	OLIGOARTHRITE	5.03		
5219	39	F	POLYARTHRALGIE INFLAMMATOIRE	8.09		
5211	55	H	POLYARTHRITE	5.03		
5212	64	F	POLYARTHRITE	9.5		
5214	38	F	POLYARTHRITE CHRONIQUE	8.65		
5215	46	H	POLYARTHRITE	13.8		
5217	40	H	POLYARTHRITE CHRONIQUE	5.51		
5218	46	F	ARTHRALGIE INFLAMMATOIRE	17.5		
5219	50	H	POLYARTHRITE CHRONIQUE	5.07		
5220	33	F	POLYARTHRITE CHRONIQUE	8.09		
5221	46	F	POLYARTHRITE	5.03		
5222	45	F	POLYARTHRITE RHUMATOIDE	16.07		
5223	67	H	POLYARTHRITE CHRONIQUE	9.04		
5224	43	F	POLYARTHRITE CHRONIQUE	12.77		
5225	48	F	POLYARTHRALGIE INF	6.31		
5227	59	F	LES	30.99	NEGATIF	20.39

5228	38	H	POLYARTHRALGIE INFLAMMATOIRE	5.87		
5229	48	F	SD DE GOUGEROT	7.46		
5232	42	F	ARTHRALGIE	16.15		
5233	23	F	ARTHRALGIE	13.6		
5236	51	F	POLYARTHRALGIE	7.7		
5239	70	H	SD DE GOUGEROT/POLYARTHRALGIE	8.25		
5246	65	F	SD DE GOUGEROT	6.8		
5251	45	F	ARTHRALGIE INFLAMMATOIRE	8.09		

Résumé

Les connectivites sont des maladies auto-immunes systémiques non spécifiques d'organes caractérisées par la production d'une grande variété d'auto-anticorps dirigés contre des auto-antigènes. Leur diagnostic est basé sur la recherche et l'identification des auto-anticorps grâce à l'utilisation de différentes techniques notamment l'ELISA.

L'objectif de notre travail est de mettre en évidence les avantages et inconvénients de la technique ELISA au cours de l'exploration immunologique des connectivites. Pour ce faire, nous avons réalisé une étude rétrospective et prospective au niveau du laboratoire d'immunologie de CHU de Tizi-Ouzou, qui a été effectuée sur 160 patients (88 patients pour l'étude rétrospective et 72 patients pour l'étude prospective).

Nos résultats montrent que parmi les 72 patients présentant des signes cliniques de connectivites, seuls 24 patients correspondant à une fréquence de 33,33% étaient positifs après réalisation du test de screening avec la technique ELISA. Ainsi, nous pouvons conclure que la technique ELISA n'est pas un bon outil pour le diagnostic des connectivites.

Mots clés : Connectivites, maladies auto-immunes, auto-anticorps, auto-antigènes, diagnostic, recherche, identification, ANA.

Summary

Connectivitis is a systemic autoimmune disease that is not specific to organs characterized by the production of a wide of autoantibody elements directed against autoantigens. Their diagnosis is based on research and identification of autoantibodies through the use of different techniques including ELISA.

The objective of our work is to highlight the advantages and disadvantages of ELISA technique during the immunological exploration of connectivitis. To do this, we carried out a retrospective and prospective study at the level of the immunology laboratory of Tizi-Ouzou University Hospital, which was carried out on 160 patients (88 patients for the retrospective study and 72 patients for the prospective study).

Our results show that among the 72 patients with clinical signs of connectivities, only 24 patients corresponding to a frequency of 33.33% were positive after carrying out the screening test with the ELISA technique. Thus, we can conclude that the ELISA technique is not a good tool for the diagnosis of connectivities.

Keywords: Connectivity, autoimmune diseases, auto-antibodies, auto-antigens, diagnosis, research, identification, ANA.