

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement supérieur et de la

Recherche Scientifique

Université ABDERRAHMANE MIRA - BEJAIA –

Faculté : Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biotechnologie



Polycopié de cours

Immunologie Appliquée

Destiné aux étudiants de 2^{ème} année licence

Sciences Alimentaires

Présenté par :

Dr. BOUDJOU-MECHOUCHE Souhila

Année universitaire 2024/2025

AVANT-PROPOS

Ce polycopié de cours s'adresse aux étudiants de deuxième année Licence en Science alimentaire, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.

Le but de ce document pédagogique est de permettre aux étudiants d'acquérir des connaissances de base solides en immunologie, tout en développant une compréhension approfondie des techniques immunologique. Le cheminement chronologique de l'enseignement permet aux étudiants de développer une réflexion logique débutant des principes généraux de l'immunité, avant d'aborder les différentes techniques utilisées pour l'identification et l'analyse des réactions immunologiques.

Ce polycopié s'articule sur trois (03) chapitres :

- **Les bases des interactions antigène-anticorps**, en détaillant les propriétés des antigènes, la diversité des immunoglobulines et les mécanismes de reconnaissance immunitaire.
- **Les techniques d'immunologie**, incluant les méthodes de précipitation, d'immunodiffusion, d'immuno-électrophorèse, d'agglutination, l'ELISA, l'immunofluorescence et les dosages radio-immunologiques essentielles en diagnostic médical.
- **L'application de ces connaissances dans le diagnostic** : les hypersensibilités, les maladies auto-immunes.

Sommaire

Liste des tableaux

Liste des figures

Chapitre I : Généralités

I.1. Introduction et définitions.....	1
I.2. Immunogénicité et Antigénicité	8
I.3. Anticorps.....	15
I.4. Le système du complément.....	25

Chapitre II : Techniques d'immunologie

II.1. Interactions anticorps-antigènes.....	35
II.2. Réaction de précipitation.....	40
II.3. Réactions d'agglutination et d'hémagglutination.....	51
II.4. Réaction de neutralisation.....	57
II.5. Réaction de fixation du complément et hémolyse.....	59
II.6. Technique immunoenzymatique (ELISA).....	63
II.7. Technique d'immunofluorescence.....	69
II.8. Dosage radio-immunologique.....	73
II.9. Vaccination et sérothérapie.....	77

Chapitre III : Le dysfonctionnement du système immunitaire

III.1. L'hypersensibilité.....	83
III.2. Maladies auto-immunes.....	92
Références bibliographiques	96

Liste des tableaux

Numéro	Titre	Page
I	Comparaison de la reconnaissance des antigènes par les lymphocytes T et B	12
II	Les caractéristiques des classes des Igs	24
III	Les types de forces non covalentes de la liaison Ac-Ag	36
IV	Les types de réaction d'agglutination	52
V	Le test de grossesse	56
VI	Les principales applications du TFC	63
VII	Applications principales de la technique ELISA	69
VIII	Applications de l'immunofluorescence	73
IX	Les applications de la radio-dosage immunologique	76
X	Les manifestations cliniques principales pour chaque type d'hypersensibilité selon la classification de Gell et Coombs	87
XI	Traitement pharmacologique de l'hypersensibilité	91

Liste des figures

Numéro	Titre	Page
1	Les organes lymphoïdes	2
2	Les cellules immunitaires	3
3	Organisation générale du système immunitaire	4
4	Les principales étapes de la phagocytose d'une bactérie	5
5	Inflammation et recrutement de cellules immunitaires sur le site de l'infection	6
6	Les étapes de la réponse immunitaire adaptative	8
7	Les types d'épitopes B	12
8	Structure de l'agrétope	13
9	Immunogénicité du complexe haptène-porteur	13
10	Migration électrophorétique des protéines plasmatiques	15
11	Structure de base d'une molécule d'immunoglobulines	16
12	Les différents composants d'immunoglobuline	17
13	Action de la papaine sur une molécule d'Ig	18
14	Action de la pepsine sur une molécule d'Ig	18
15	La variabilité des anticorps	19
16	Site de fixation d'antigène	20
17	Les étapes de neutralisation d'une toxine	21
18	Les étapes Inhibition de l'adhésion bactérienne aux surfaces cellulaires	21
19	Blocage d'un virus par la partie Fab d'Ig	22
20	Les différentes classes d'immunoglobulines	23
21	Rôle du système du complément	26
22	Les différentes voies d'activation du complément	27
23	Fixation du C1q sur le complexe immunitaire	28
24	Les étapes de la voie classique de l'activation du complément	29
25	Les étapes d'activation de la voie alterne	30
26	Activation de la voie des lectines	31
27	Régulation du système du complément	34
28	Le complexe immunitaire (Ac-Ag)	35
29	Les différentes forces qui relient l'Ac et l'Ag	36
30	La forte et faible affinité entre l'épitope et le paratope	37
31	L'Affinité et l'avidité	37
32	Les différents types de réaction d'immunoprécipitation	41
33	Le test de l'anneau (Ring test)	42
34	Expérience de Heidelberg et Kendall	42
35	Résultats d'expérience de Heidelberg et Kendall	43
36	Immunonéphélométrie (A), Immunoturbidimétrie (B)	44
37	Immunodiffusion simple	45
38	Technique de Mancini	45
39	Technique d'Ouchterlony	46
40	Le principe d'Immunodiffusion double	47
41	Comparaison des arcs de précipitation Ac-Ag	47
42	Immunoélectrophorèse (séparation des antigènes)	48

43	Les étapes d'Immunoélectrophorèse	49
44	Immunoélectrophorèse en fusée (Technique de Laurell)	49
45	L'électrosynérèse	50
46	Technique d'Immunofixation	51
47	Réaction d'agglutination	51
48	Agglutination active directe	52
49	Test de Coombs direct	53
50	Agglutination active indirecte	54
51	Test de Coombs indirect	54
52	Test au latex	55
53	Test de Waaler-Rose	56
54	Principe du test de grossesse	57
55	Titration des anticorps anti-streptolysine o (aslo)	58
56	Le principe de la réaction de neutralisation	59
57	Neutralisation des ASLO	59
58	Système indicateur d'hémolyse	60
59	Fixation du complément et l'hémolyse	62
60	Les étapes d'ELISA direct	64
61	ELISA indirect	66
62	ELISA sandwich	67
63	ELISA compétitive	68
64	Principe de l'immunofluorescence	70
65	Principe de l'immunofluorescence direct	71
66	Principe de l'immunofluorescence indirect	72
67	Le principe de la Radio-Immunoassay (RIA)	74
68	Principe de l'Immuno Radio Metric Assay (IRMA)	75
69	Mécanisme immunologique de l'hypersensibilité de type I (allergie immédiate)	84
70	Mécanismes impliqués dans l'hypersensibilité type II	85
71	Mécanismes immunologiques de l'hypersensibilité de type III	86
72	Mécanismes impliqués dans l'hypersensibilité type IV	86
73	Prick Test	89
74	Patch Test (Test épicutané)	89

I.1. Généralités et définitions

I.1. 1. Définitions :

- **L'immunologie** : c'est la branche de la biologie qui étudie le système immunitaire, un réseau complexe d'organes, de tissus, de cellules et de molécules qui interagissent pour protéger l'organisme contre les agents pathogènes, tels que les bactéries, les virus, les parasites et les cellules cancéreuses. Elle examine également les réponses immunitaires normales et anormales, y compris les maladies auto-immunes, les allergies et les réactions de rejet après une transplantation. L'immunologie est cruciale pour comprendre comment le corps se défend contre les infections et comment les maladies auto-immunes et les allergies se développent, ce qui est essentiel pour le développement de traitements médicaux et de vaccins.
- **Une infection** : c'est une condition provoquée par la présence et la multiplication d'un agent pathogène, tel qu'une bactérie, un virus, un parasite ou un champignon, dans l'organisme d'un hôte. Ces agents pathogènes peuvent envahir le corps et causer des dommages en perturbant le fonctionnement normal des cellules, des tissus et des organes. Les infections peuvent se manifester de différentes manières, allant des symptômes légers, tels que de la fièvre ou des maux de tête, à des symptômes plus graves, voire mortels, selon la gravité de l'agent pathogène et la réponse immunitaire de l'hôte.
- **L'immunité** : Désigne la capacité d'un organisme à résister ou à se défendre contre des agents pathogènes tels que les virus, les bactéries ou d'autres agents infectieux. Elle peut être naturelle ou acquise.
- **Le système immunitaire** : est un réseau complexe d'organes, de cellules et de molécules qui travaillent ensemble pour protéger le corps contre les agents pathogènes, tels que les bactéries, les virus, les parasites et les cellules cancéreuses. Son rôle principal est de détecter et de neutraliser les substances étrangères qui pourraient causer des maladies ou des infections. Il est également impliqué dans la reconnaissance et la destruction des cellules anormales du corps, comme les cellules cancéreuses, et dans la régulation des réactions inflammatoires.
- **La réponse immunitaire** est un mécanisme complexe par lequel le corps se défend contre les infections et les agents pathogènes, comme les virus, les bactéries et les parasites. Elle implique une multitude de cellules, de molécules et de mécanismes pour

détecter et éliminer les menaces. La réponse immunitaire peut être divisée en deux grandes catégories : innée et adaptative.

Notre organisme est capable :

- ☐ De reconnaître et tolérer ce qui lui appartient « soi »
- ☐ De reconnaître et rejeter ce qui lui est étranger « non-soi »

I.1.2. Les composants du système immunitaire

Le système immunitaire est complexe et comprend de nombreux composants. Voici une vue d'ensemble des principaux composants du système immunitaire :

A) Les organes et tissus lymphoïdes

Le système immunitaire se compose de différents organes et tissus répartis dans l'organisme et qui constituent le lieu de production, de maturation et de résidence des cellules immunitaires, nommés « les organes lymphoïdes ». Ces organes peuvent être classés fonctionnellement en deux groupes principaux (Figure1) :

- ☐ **Les organes lymphoïdes primaires** : représentés par la moelle osseuse et le thymus.
- ☐ **Les organes lymphoïdes secondaires** : représentés par les ganglions lymphatiques, la rate, les amygdales et les tissus lymphoïdes associés aux muqueuses.

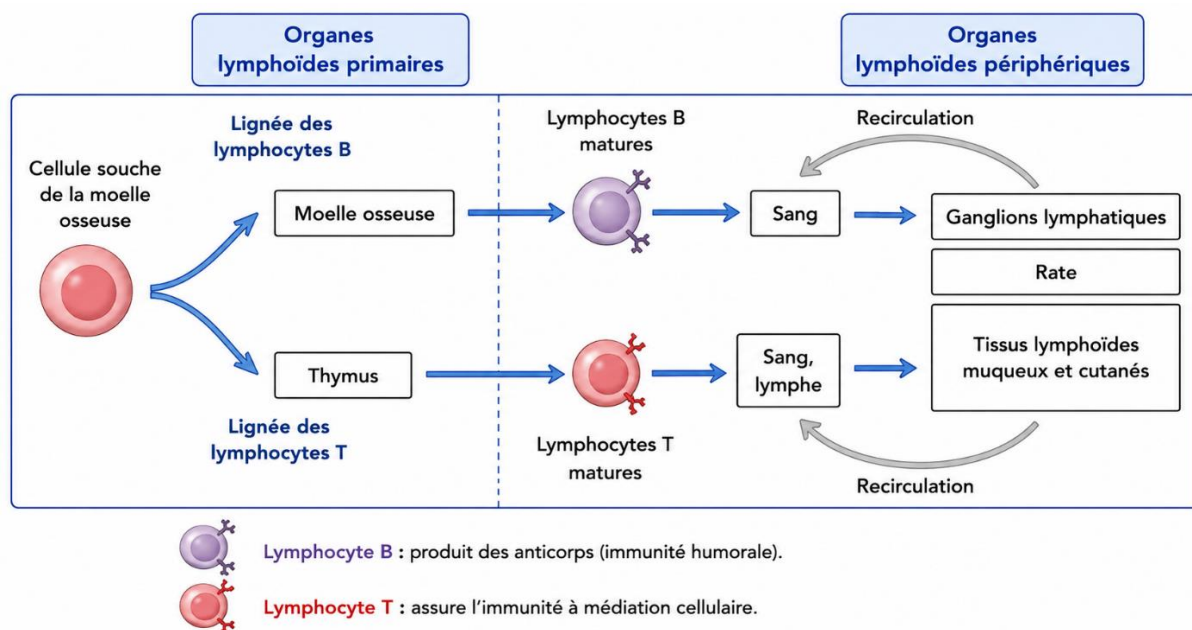


Figure 1 : Les organes lymphoïdes

B) Les cellules immunitaires

Les cellules immunitaires sont les éléments clés du système immunitaire, responsables de la reconnaissance et de l'élimination des agents pathogènes ainsi que des cellules anormales. Voici une liste des principales cellules immunitaires et de leurs fonctions (figure 2) :

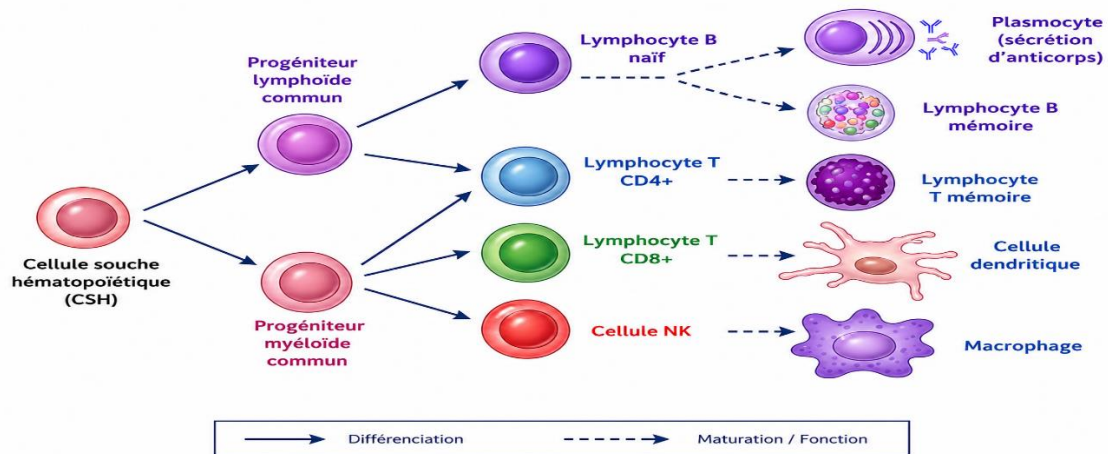


Figure 2 : Les cellules immunitaires

- **Lymphocytes T (LT) :** Ces cellules sont produites dans la moelle osseuse et mûrissent dans le thymus. Il existe plusieurs sous-types de lymphocytes T, chacun ayant des fonctions spécifiques :
 - **Lymphocytes T cytotoxiques (CD8+) :** Ils détruisent les cellules infectées par des agents pathogènes ou cancéreuses.
 - **Lymphocytes T auxiliaires (CD4+) :** Ils coordonnent la réponse immunitaire en activant d'autres cellules immunitaires et en régulant l'immunité.
- **Lymphocytes B (LB) :** Produits dans la moelle osseuse, les lymphocytes B sont responsables de la production d'anticorps. Ils sont activés lorsqu'ils reconnaissent un antigène spécifique et se différencient en plasmocytes qui sécrètent des anticorps.
- **Cellules phagocytaires :** Ces cellules englobent et détruisent les agents pathogènes et les cellules mortes. Les principaux types de cellules phagocytaires comprennent :
 - **Macrophages :** Ils sont présents dans tout le corps et jouent un rôle crucial dans la phagocytose des agents pathogènes et dans la présentation de l'antigène aux lymphocytes T.

- **Neutrophiles** : Ils sont les premiers à migrer vers le site d'une infection et sont efficaces dans la phagocytose des bactéries.
- **Cellules dendritiques** : Elles sont spécialisées dans la capture des antigènes et la présentation de ceux-ci aux lymphocytes T.
- **Cellules tueuses naturelles (Natural Killer, NK)** : Ces cellules participent à la destruction des cellules infectées par des agents pathogènes ou cancéreuses, sans nécessiter une activation spécifique comme les lymphocytes T cytotoxiques.
- **Granulocytes** : Ce sont des cellules impliquées dans la réponse inflammatoire. Les principaux types de granulocytes sont les basophiles, les éosinophiles et les mastocytes.
- **Cellules régulatrices (T régulatrices)** : Elles jouent un rôle dans la suppression de l'activité immunitaire excessive afin de prévenir les réactions auto-immunes.

On classe habituellement les cellules immunitaires en cellules de l'immunité innée et cellules de l'immunité adaptative. La différence entre ces deux classes de cellules réside dans la spécificité de leur reconnaissance des antigènes (figure 3).

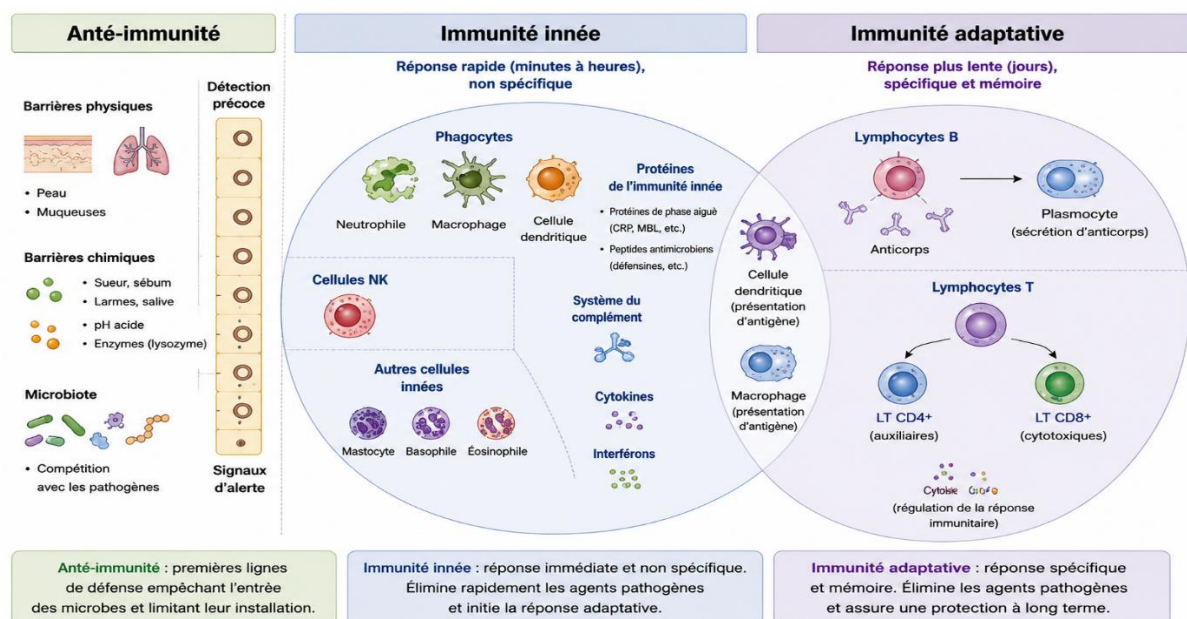


Figure 3 : Organisation générale du système immunitaire

I.1.3. Les réponses immunitaires

I.1.3.1 : La réponse immunitaire innée : C'est la première ligne de défense du corps contre les agents pathogènes et les menaces pour la santé. Elle est présente dès la naissance et offre

une protection immédiate, bien que non spécifique, contre une variété d'agents pathogènes. Voici les principaux aspects de la réponse immunitaire innée :

a) Barrières physiques et chimiques : La peau et les muqueuses, comme celles du système respiratoire, gastro-intestinal et urogénital, constituent la première ligne de défense contre les infections. Ces barrières empêchent les agents pathogènes d'entrer dans le corps et contiennent également des substances chimiques (comme les enzymes digestives, les acides gastriques, etc.) qui peuvent tuer ou inhiber la croissance des agents pathogènes.

b) Cellules phagocytaires : Les cellules phagocytaires, telles que les macrophages, les neutrophiles et les cellules dendritiques, sont responsables de l'ingestion et de la destruction des agents pathogènes. Elles détectent les signes de danger associés aux agents pathogènes, comme les motifs moléculaires associés aux pathogènes (PAMP), et les engloutissent ensuite pour les détruire (figure 4).

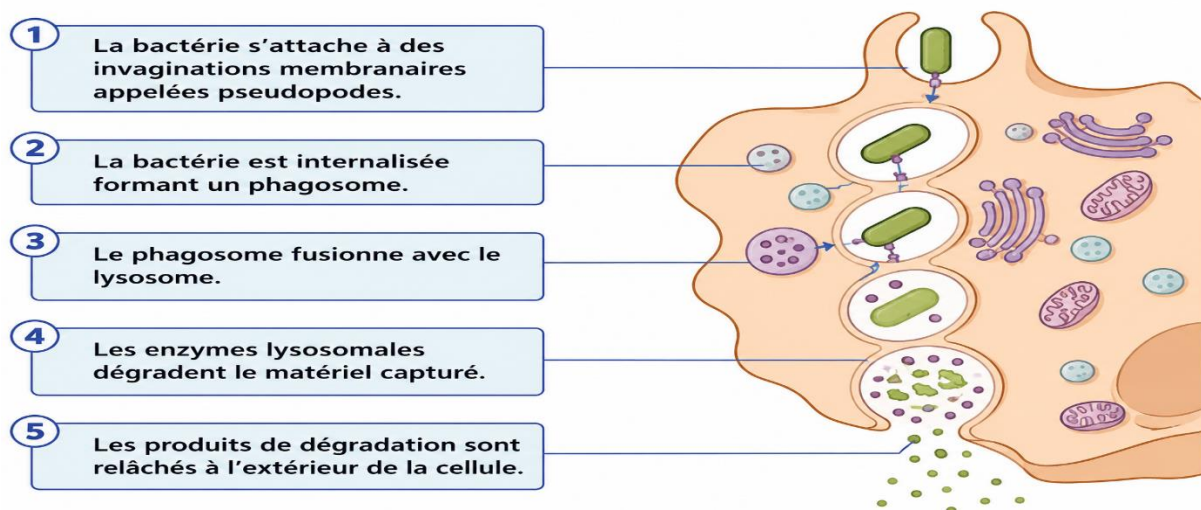


Figure 4 : les principales étapes de la phagocytose d'une bactérie

c) Réponse inflammatoire : Lorsqu'une infection est détectée, les cellules immunitaires libèrent des médiateurs inflammatoires, tels que les cytokines et les chimiokines, qui augmentent la perméabilité des vaisseaux sanguins et recrutent davantage de cellules immunitaires vers le site de l'infection. Cela entraîne des symptômes inflammatoires tels que rougeur, chaleur, gonflement et douleur (figure 5).

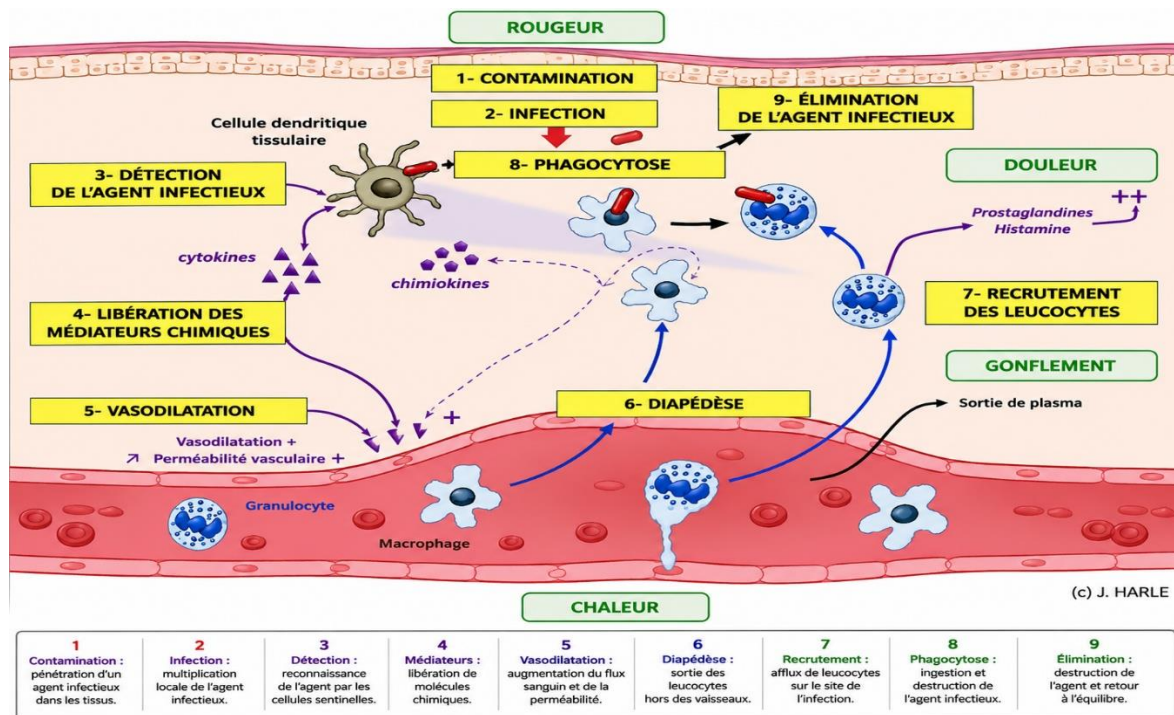


Figure 5 : Inflammation et recrutement de cellules immunitaires sur le site de l'infection.

I.1.3.2 : La réponse immunitaire adaptative : La réponse immunitaire adaptative, également connue sous le nom d'immunité acquise, est un système de défense complexe et spécifique que le corps déploie en réponse à des agents pathogènes spécifiques, tels que des virus, des bactéries ou des parasites. Contrairement à l'immunité innée, qui offre une réponse immédiate mais non spécifique, l'immunité adaptative se développe au fil du temps et est caractérisée par sa spécificité et sa mémoire.

Cette réponse adaptative est principalement médiée par deux types de lymphocytes : les lymphocytes B et les lymphocytes T. Les lymphocytes B sont responsables de la production d'anticorps, des protéines spécifiques capables de reconnaître et de neutraliser les agents pathogènes. Les lymphocytes T, quant à eux, jouent un rôle central dans la coordination de la réponse immunitaire, en identifiant et en détruisant les cellules infectées par des agents pathogènes.

Les mécanismes de la réponse immunitaire adaptative comprennent plusieurs étapes clés qui permettent au système immunitaire de reconnaître et de cibler spécifiquement les agents pathogènes. Voici les principaux mécanismes de la réponse immunitaire adaptative (figure 6):

- 1. Reconnaissance des antigènes :** Les lymphocytes T et B sont capables de reconnaître spécifiquement les antigènes des agents pathogènes grâce à leurs récepteurs spécifiques.

Les lymphocytes T reconnaissent les antigènes présentés par les cellules présentatrices d'antigènes, tandis que les lymphocytes B produisent des anticorps qui se lient aux antigènes.

2. **Activation des lymphocytes** : Lorsqu'un lymphocyte T ou B reconnaît un antigène spécifique, il subit une activation qui déclenche sa multiplication et sa différenciation en cellules effectrices capables de combattre l'agent pathogène.
3. **Réponse cellulaire et humorale** : La réponse immunitaire adaptative comprend à la fois une composante cellulaire, impliquant les lymphocytes T cytotoxiques et les lymphocytes T auxiliaires, et une composante humorale, impliquant les anticorps produits par les lymphocytes B.
4. **Mémoire immunitaire** : Un aspect crucial de la réponse immunitaire adaptative est la formation d'une mémoire immunitaire. Après une première exposition à un agent pathogène, le système immunitaire se souvient de l'antigène et peut monter une réponse plus rapide et plus efficace lors d'une exposition ultérieure.
5. **Régulation de la réponse immunitaire** : La réponse immunitaire adaptative est finement régulée pour éviter les réponses excessives ou inappropriées. Les lymphocytes régulateurs, tels que les lymphocytes T régulateurs (LTreg), jouent un rôle essentiel dans la modulation de la réponse immunitaire.

En résumé : La réponse immunitaire adaptative se caractérise par une reconnaissance hautement spécifique des antigènes grâce aux lymphocytes B et T. Cette reconnaissance entraîne leur activation, leur prolifération et leur différenciation en cellules effectrices capables de neutraliser l'agent pathogène par des réponses **cellulaires** et **humorales**. Elle permet également la mise en place d'une **mémoire immunitaire**, assurant une réponse plus rapide et plus efficace lors d'une exposition ultérieure au même antigène. Enfin, des mécanismes de **régulation précis** contrôlent l'intensité et la durée de la réponse afin de protéger l'organisme tout en évitant des réactions excessives ou auto-immunes.

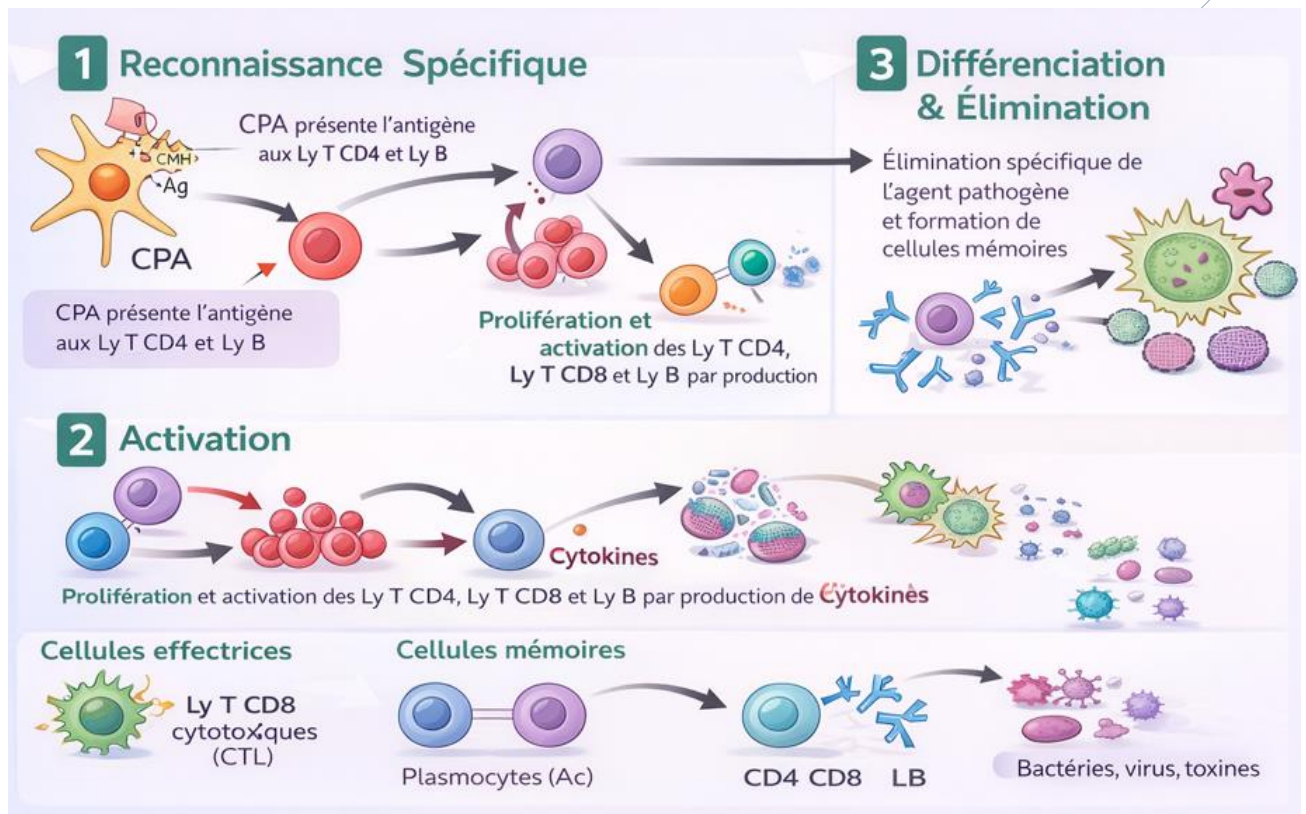


Figure 6 : Les étapes de la réponse immunitaire adaptative

Cette figure illustre le déroulement global de la réponse immunitaire spécifique, depuis la reconnaissance de l'antigène par les lymphocytes naïfs jusqu'à la mise en place des cellules effectrices et mémoires. Elle met en évidence le rôle central des lymphocytes T CD4⁺ dans l'activation, la coordination et l'orientation de la réponse immunitaire, ainsi que la coopération entre les réponses cellulaire et humorale pour éliminer efficacement l'agent pathogène.

I.2. Immunogénicité et Antigénicité

I.2.1. Antigène :

I.2.1.1. Définition : un antigène est une substance capable de déclencher une réponse immunitaire dans un organisme. Il s'agit souvent d'une protéine qui peut se lier à des anticorps ou à des récepteurs de lymphocytes T. Les antigènes peuvent être associés à des maladies spécifiques, utilisés pour le diagnostic, ou jouer un rôle crucial dans la reconnaissance et la réactivité immunitaire.

I.2.1.2. Les différents types d'antigènes : Les types d'antigènes peuvent varier en fonction de leur origine, de leur structure, de leur fonctionnalité et de leur rôle dans le système immunitaire.

A) Selon leurs natures :

- **Antigènes protéiques :** Ce sont des antigènes composés de protéines tel que : Toxine tétanique (une bactérie), Spicule SARS-CoV-2 (virus). Les antigènes protéiques peuvent être dérivés de micro-organismes, de cellules cancéreuses ou de composants alimentaires.
- **Antigènes lipidiques :** Les antigènes lipidiques sont constitués de lipides, qui sont des molécules hydrophobes telles que les acides gras et les stéroïdes. Ces antigènes peuvent être trouvés dans les membranes cellulaires ou être dérivés de bactéries ou de parasites. Exemple : Lipoarabinomannane *M. tuberculosis*, cardiolipine, α -galactosylcéramide.
- **Antigènes glucidiques (ou antigènes polysaccharidiques) :** Ces antigènes sont composés de glucides. Ils peuvent être présents à la surface des micro-organismes (Capsule pneumocoque et LPS des Bactéries G⁻), ou être des composants des glycoprotéines et des glycolipides des membranes cellulaires (Groupes sanguins ABO sur les Érythrocytes) .
- **Antigènes nucléiques :** Les antigènes nucléiques sont constitués d'acides nucléiques tels que l'ADN ou l'ARN. Ils peuvent être dérivés de virus à ARN ou à ADN, ainsi que de cellules cancéreuses présentant des mutations génétiques spécifiques. Exemples : anticorps anti-ADN double brin dans le lupus, ARN viral reconnu par les récepteurs TLR innés, ARNm vaccinal (COVID-19).

B) Selon leurs provenances :

- **Xénoantigènes ou hétéroantigènes** : antigènes provenant d'une espèce différente de l'espèce répondeuse. Exemple : globules rouges de mouton chez la souris.
 - **Alloantigènes** : antigènes provenant d'un individu de la même espèce que l'individu répondeur mais génétiquement différent. Exemple : antigènes de groupes sanguins humains (ABO). Antigènes du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH).
 - **Autoantigènes ou antigènes autologues** : sont les substances de l'individu vis à vis desquelles une réaction immunitaire anormale est produite (cas des maladies auto-immunes).
- ❖ Les antigènes présentent deux propriétés fonctionnelles essentielles : L'immunogénicité et l'antigénicité.

I.2.2. L'immunogénicité :

I.2.2.1. Définition : L'immunogénicité d'un antigène fait référence à la capacité de cet antigène à induire une réaction immunitaire dans l'organisme. Cela signifie que l'antigène est capable de déclencher une réponse immunitaire, conduisant à la production d'anticorps ou à l'activation des cellules immunitaires. Cette propriété est essentielle dans l'évaluation des vaccins et des traitements immunologiques, car elle détermine l'efficacité de la réponse immunitaire qu'ils peuvent susciter.

I.2.2.2. Facteurs influençant l'immunogénicité :

- a) **Nature de la substance** : Les composants spécifiques de la substance, tels que les protéines, les polysaccharides ou les lipides, peuvent jouer un rôle dans son immunogénicité.
- b) **Administration** : La voie d'administration, qu'il s'agisse d'une ingestion par voie orale, d'une injection intramusculaire ou d'une application topique, peut influencer la manière dont la substance interagit avec le système immunitaire.
- c) **Dose** : La quantité de substance administrée peut avoir un impact sur la puissance de la réponse immunitaire induite. Des doses plus élevées peuvent souvent entraîner une réponse plus importante.

- d) **La taille** : Il existe une corrélation entre la taille d'une macromolécule et son immunogénicité. Le poids moléculaire idéal : 100 KDa et les protéines de poids moléculaire < 5 kD sont parfois antigéniques mais généralement peu immunogènes.
- e) **Présence d'adjuvants** : Certains produits peuvent contenir des adjuvants, des substances ajoutées pour augmenter la réponse immunitaire. Ces adjuvants peuvent influencer l'immunogénicité du produit.
- f) **Variabilité individuelle** : Les caractéristiques individuelles telles que l'âge, le sexe, le statut immunitaire préexistant et les facteurs génétiques peuvent influencer la manière dont une personne répond à une substance immunogène.
- g) **Interactions avec d'autres substances** : Les interactions avec d'autres médicaments ou composés présents dans l'organisme peuvent également influencer l'immunogénicité d'une substance.
- h) **Caractère étranger à l'organisme** : Pour être immunogène et déclencher une réponse immunitaire, l'antigène doit être reconnu par le système immunitaire comme étranger, donc dit « non soi ».
- i) **Des molécules dégradables** : Capacité à être apprêté et présenté par une molécule du CMH. Il est important pour un bon immunogène de pouvoir être dégradé dans les cellules de l'immunité innée qui le reconnaissent. C'est probablement une des raisons de la supériorité des antigènes protéiques à présenter des propriétés immunogènes.

I.2.3. L'antigénicité :

I.2.3.1. Définition : L'antigénicité est la capacité d'un antigène à se combiner spécifiquement avec les effecteurs humoraux et/ou cellulaires (anticorps/ TCR) par complémentarité de structure.

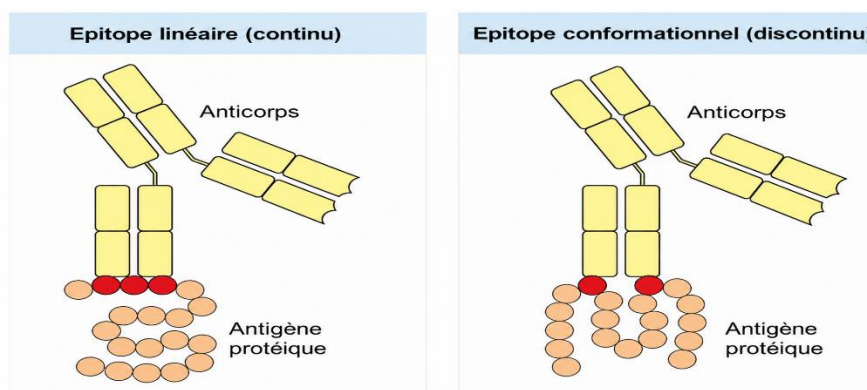
I.2.3.2. Les épitopes : Les lymphocytes n'interagissent pas avec l'antigène entier, ils reconnaissent des sites discrets de l'antigène appelés épitopes ou déterminants antigéniques. On définit donc l'épitope, comme étant la portion de la molécule d'antigène qui se lie sélectivement au site complémentaire du récepteur membranaire spécifique (TCR ou BCR) ou alors au site anticorps appelé paratope de l'anticorps sécrété.

Tableau I : Comparaison de la reconnaissance des antigènes par les lymphocytes T et B

Caractéristiques	Cellules B	Cellules T
Interaction avec l'antigène	Implique complexe binaire entre BCR et Ag	Implique un complexe ternaire entre TCR, Ag et CMH
Fixation d'un Ag soluble	Oui	Non
Implication CMH	Pas nécessaire	Nécessaire pour l'Ag apprêté
Nature chimique des Ag	Protéines, polysaccharides, lipides	Essentiellement des protéines
Propriétés de l'épitopes	Peptides accessibles, hydrophiles, mobiles contenant des aa séquentiels ou non	Peptides linéaires internes produits par l'apprêtement de l'antigène et liés à la molécule du CMH

I.2.3.3. Les différents types d'épitopes B :

- A) **Les épitopes séquentiels ou continu** : c'est la partie de l'antigènes à structure linéaire (12 à 18 aa ou 5 à 6 oses) qui se suivent.
- B) **Les épitopes conformationnels ou discontinu** : composés d'aa qui se suivent en 3D mais qui sont dans la réalité éparpillés en endroits séparés de la séquence primaire.

**Figure 7** : Les types d'épitopes B

I.2.3.4. Epitope T et agrétope : L'Epitope T est linéaire, issu d'un apprêtement de l'antigène. Les antigènes reconnus par les lymphocytes doivent avoir un site de liaison pour le TCR (épitope) et un site de liaison pour la molécule CMH (**agrétope**) (figure 8).

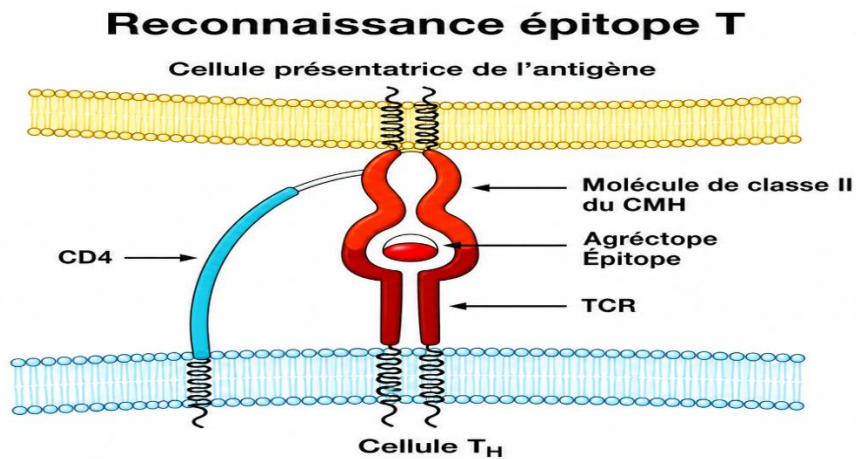


Figure 8 : Structure de l'agrétope

1.2.3. Les haptènes : Les molécules **immunogènes** sont toutes antigéniques mais l'inverse n'est pas vrai. Il existe des petites molécules appelées **haptènes** qui sont antigéniques mais sont dépourvues d'immunogénicité. Les haptènes sont des petites molécules (< 10kD) trop petites pour être immunogènes, mais sont antigéniques. Pour devenir immunogènes, doivent se lier à une protéine porteuse.

• **haptène seul -> non immunogène**



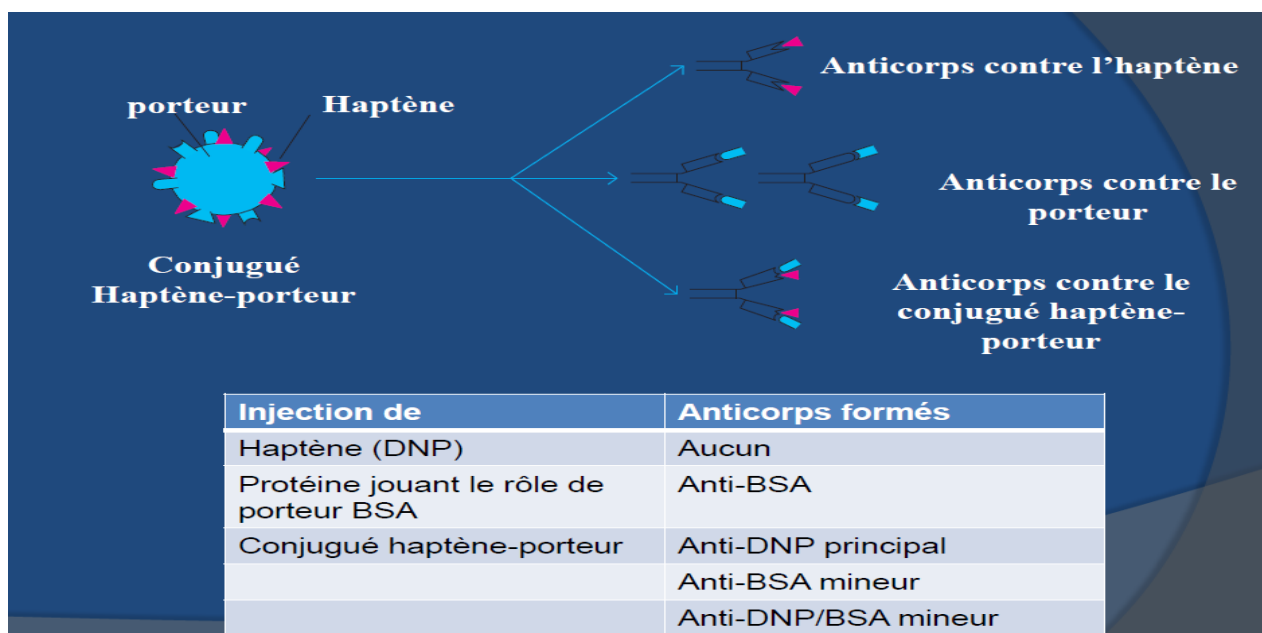
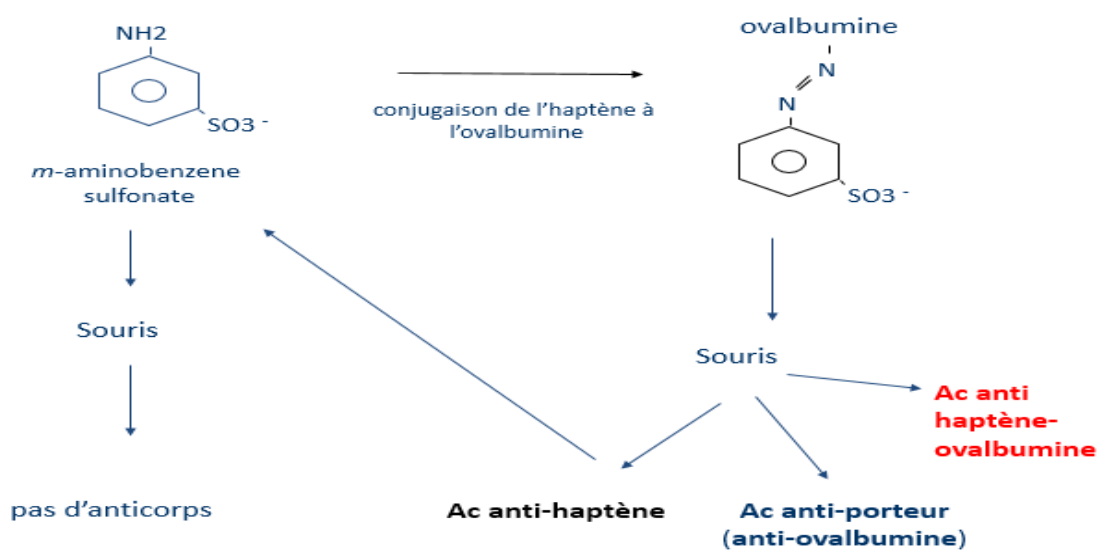
• **haptène + molécule porteuse (carrier) -> immunogène**



Figure 9 : Immunogénicité du complexe haptène-porteur

❖ Exemples d'haptènes : métaux, produits de synthèse, médicaments, hormones peptidiques ou stéroïdes.

Exemple de réaction anti-haptène



I.3. Les anticorps

I.3.1. Définition :

Les immunoglobulines (Ig) sont des glycoprotéines, dont la synthèse est déclenchée dans l'organisme en réponse à la présence de substances étrangères (produit d'une réponse immunitaire).

- ✓ **Immunoglobulines** : quand on s'intéresse à la structure (constituent une famille de protéines globulaires (globulines)).
- ✓ **Anticorps** : quand on s'intéresse à la fonction (lorsqu'on considère leur activité biologique de liaison à un antigène).
- ✓ **Gammaglobulines** : lorsqu'on s'intéresse à leur caractéristique de migration en électrophorèse et par extension pour des préparations à usage thérapeutique (Figure10).

Elles sont présentes :

- ✓ Sous forme **soluble** dans le plasma et dans de nombreuses sécrétions
- ✓ Sous forme **membranaire** comme élément du récepteur de l'Ag à la surface des lymphocytes B (BCR).

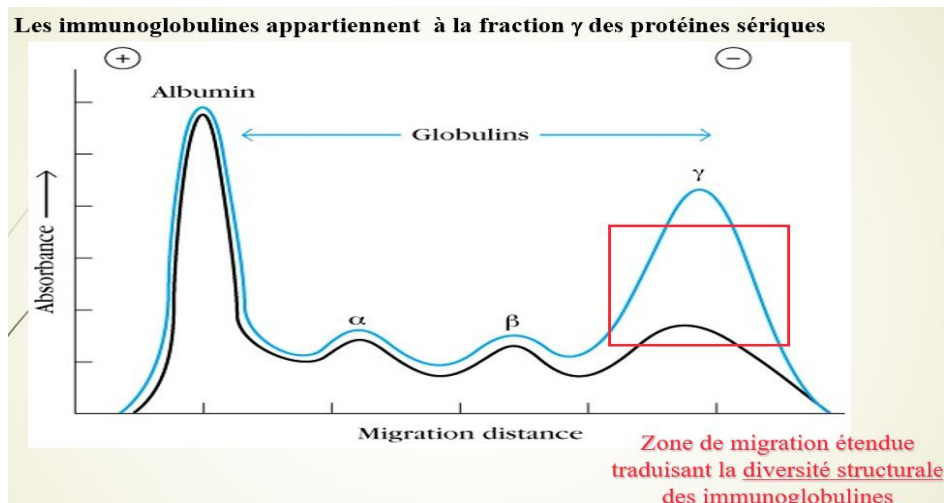


Figure10 : Migration électrophorétique des protéines plasmatiques

I.3.2. La structure de base des immunoglobulines : Malgré la variété extraordinaire de leur spécificité anticorps, les Ig possèdent en commun, une structure de base symétrique en "Y" et pluricaténaire comprenant 4 chaînes polypeptidiques.

I.3.3. Les composants de la molécule d'Ig :

- A. Chaînes lourdes et légères :** Deux chaînes légères identiques "**L**" (**Light**) : Kappa (κ) ou lambda (λ) et deux chaînes lourdes identiques "**H**" (**Heavy**) : gamma (γ), alpha (α), mu (μ), delta (δ) ou epsilon (ϵ).
- ❖ **La chaîne légère :** Elles comportent entre 212 et 220 aa. Se divisent en deux parties sensiblement égales d'environ 107 aa chacune :
 - **Une région variable (VL) :** correspondant à la moitié N terminale, comportant un pont disulfure intra-caténaire formant la boucle VL et faisant partie du site anticorps.
 - **Une région constante (CL) :** représentée par la partie C terminale avec un pont disulfure intra-caténaire formant la boucle CL et responsable de la différence antigénique entre les chaînes κ et λ .
 - ❖ **La chaîne lourde :** Elles comprennent environ 446 aa et sont subdivisées en deux parties :
 - - **Une partie variable N terminale (VH) :** d'environ 110 aa, située dans le fragment Fab et comportant une boucle VH formée par un pont disulfure intra-caténaire.
 - - **Une partie constante C terminale (CH) :** de 330 aa environ, contenant des ponts disulfure intra-caténaires formant les boucles CH1, CH2, CH3.

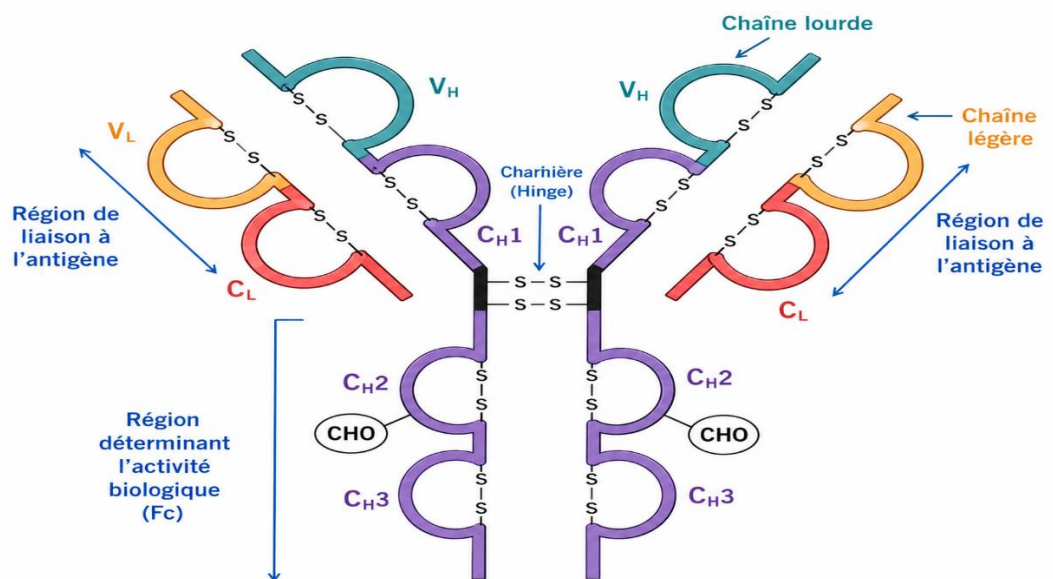


Figure 11 : Structure de base d'une molécule d'immunoglobulines

- B. Ponts disulfures** : Ces chaînes sont reliées entre elles par des ponts disulfures intercaténaux et par des liaisons non covalentes.
- C. Domaines** : Les chaînes lourdes et légères contiennent des ponts disulfures intracaténaux, chaque pont permettant la formation d'une boucle peptidique qui représente la partie centrale d'une région fonctionnelle d'environ 100 aa appelée domaine. Les Ig comportent 4 ou 5 domaines par chaîne H (un domaine variable ou VH et 3 ou 4 domaines constants ou CH) et deux domaines par chaîne L (un VL et un CL).
- D. Région charnière** : Il existe sur les chaînes lourdes une séquence relativement linéaire appelée : région charnière (**Hinge region**), cette région constitue la cible des enzymes protéolytiques et permet à la molécule d'Ig une certaine flexibilité.
- E. Régions Variables (V) et Constantes (C)** :
- F. Oligosaccharides (Les cupules glucidiques)** : Les Ig contiennent une ou plusieurs cupules glucidiques (selon les classes et les sous-classes), localisées sur les chaînes lourdes (Figure 12).

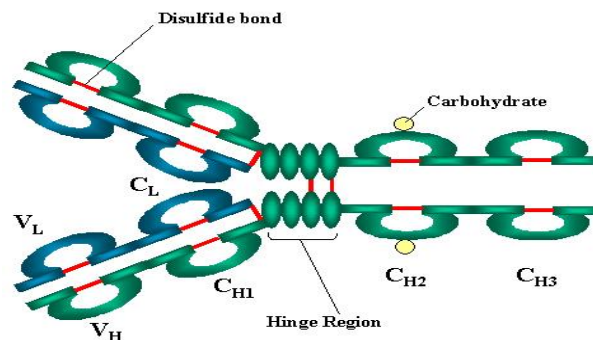


Figure 12 : Les différents composants d'immunoglobuline

I.3.4. Fragmentation des immunoglobulines :

L'utilisation des enzymes protéolytiques (papaïne, pepsine) a permis à PORTER et NISONOFF de mener les premières études structurales sur l'IgG de lapin.

I.3.4.1. Action de la papaïne (PORTER) :

La papaïne coupe la molécule d'IgG au niveau de la région charnière en trois fragments (Figure13) :

- ❖ **Deux fragments Fab « Fragment antigen binding »** identiques, correspondant à la moitié N terminale d'une chaîne lourde et à la totalité d'une chaîne légère.

- ❖ Un fragment Fc « **Fragment cristallisable** » (parce qu'il se cristallise à froid) qui correspond à l'ensemble des deux moitiés restantes des chaînes lourdes et qui porte la plupart des glucides et les structures responsables des **propriétés biologiques spécifiques** de chaque classe d'Ig.

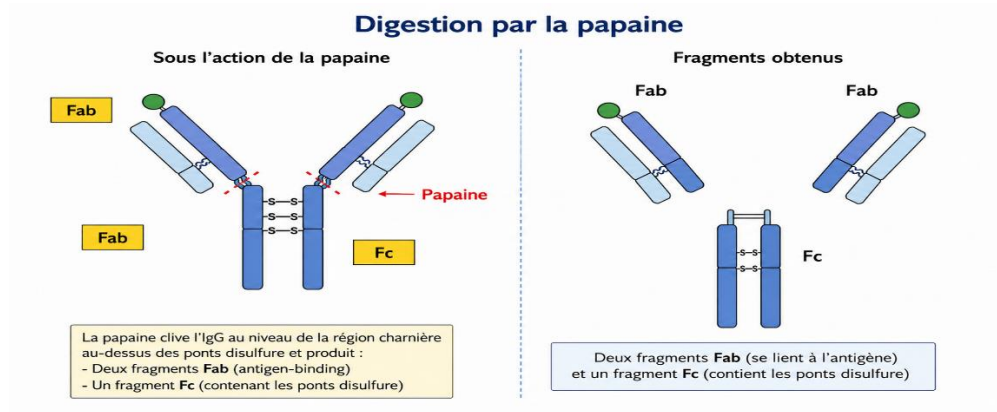


Figure 13 : Action de la papaine sur une molécule d'Ig

1.3.4.2. Action de la pepsine (NISONOFF) :

Une brève digestion par la pepsine donne un seul fragment composé de deux fragments semblables au Fab et désigné $F(ab')_2$. Le fragment Fc est par contre digéré en de multiples fragments pFc' (Figure 14).

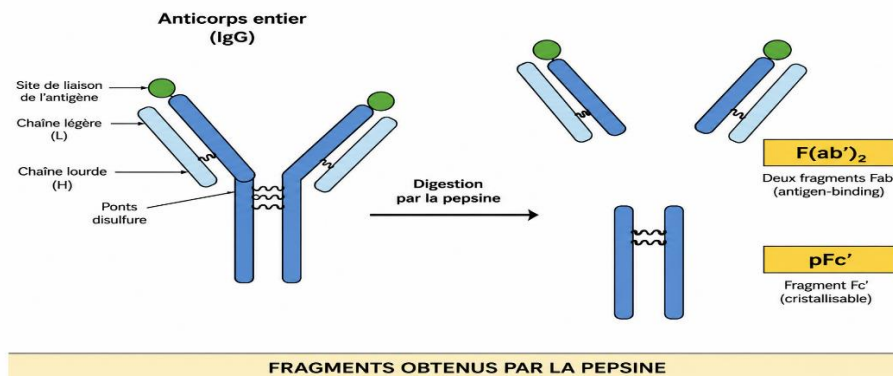


Figure 14 : Action de la pepsine sur une molécule d'Ig

1.3.5. Variabilité des anticorps :

Les Ig sont caractérisées par une très grande hétérogénéité qui s'exprime à trois niveaux (figure 15) :

a) L'isotypie :

Les caractères isotypiques sont communs à tous les individus d'une même espèce et définissent les classes et les sous-classes d'immunoglobulines ainsi que les types de chaînes légères.

Dr BOUDJOU-MECHOUCHE.S

Les déterminants isotypiques sont portés par les domaines constants des chaînes lourdes et légères. Il existe : 9 isotypes différents pour les chaînes lourdes permettant de distinguer :

- **5 classes d'Ig** : IgG, IgA, IgM, IgE et IgD incluant :
- **4 sous classes d'IgG** : IgG1, IgG2, IgG3, IgG4.
- **2 sous classes d'IgA** : IgA1, IgA2.

b) L'allotypie :

Les spécificités allotypiques, sont des déterminants antigéniques qui permettent de distinguer les Ig de deux individus ou de groupes d'individus au sein d'une même espèce. Les déterminants allotypiques sont présents au niveau de certaines régions sur les domaines constants des chaînes γ , des chaînes α et des chaînes κ .

c) L'idiotypie :

Les spécificités idiotypiques sont des déterminants antigéniques qui caractérisent un anticorps donné chez un individu. Elles sont portées par les domaines variables des Ig. C'est ce niveau de variation qui détermine la spécificité pour l'antigène.

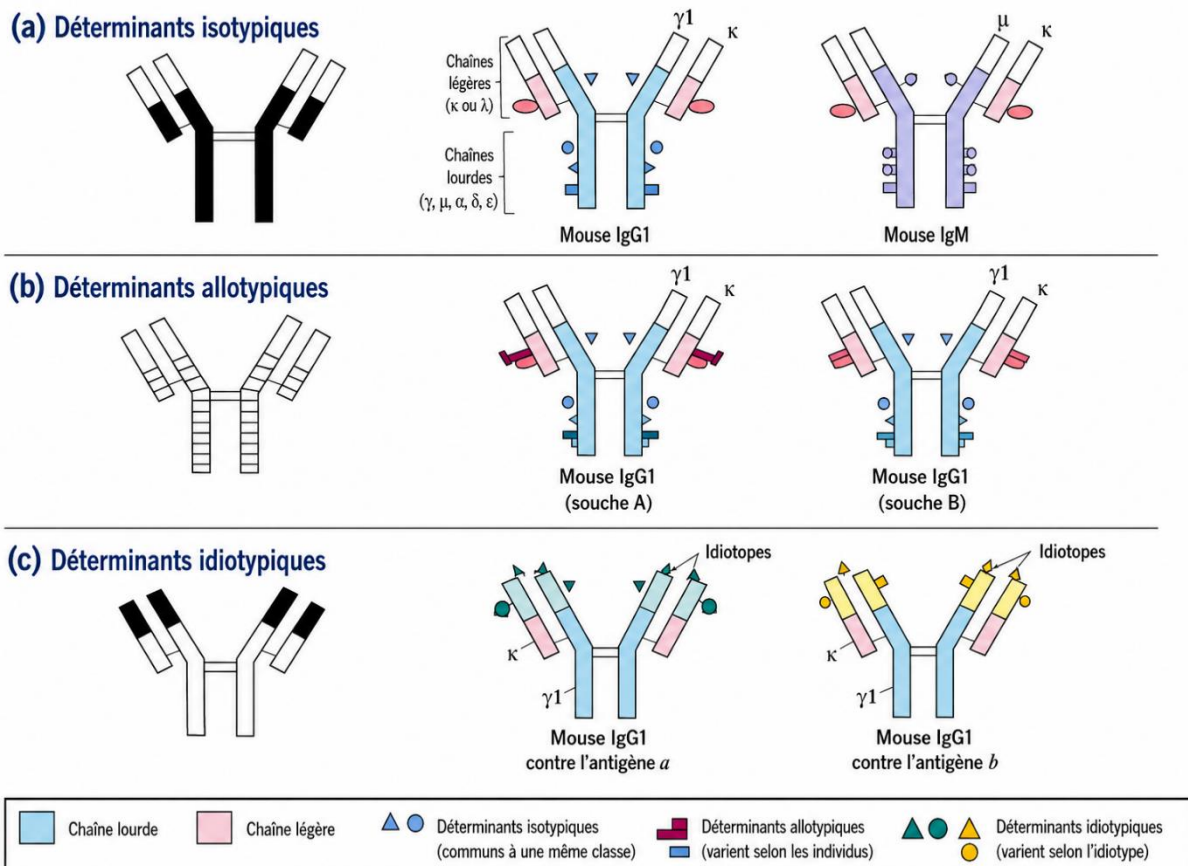


Figure 15 : La variabilité des anticorps

I.3.6. Fonctions des immunoglobulines :

Les immunoglobulines jouent un rôle central dans la défense de l'organisme contre les infections et les maladies en ciblant spécifiquement les agents pathogènes et en régulant la réponse immunitaire. Deux fonctions essentielles d'immunoglobulines :

- ❖ **La fonction de reconnaissance de l'Ag** qui est localisée au niveau du fragment Fab. C'est une fonction assurée par toutes les Ig.
- ❖ **Les fonctions effectrices** dont le support est le fragment Fc et qui varient selon la classe d'Ig.

A) Fonction de reconnaissance : C'est la fonction anticorps assurée par le fragment Fab. L'interaction Ac-Ag (impliquant l'épitope sur l'Ag et le paratope sur l'Ac) est basée sur la complémentarité de structure qui détermine l'affinité de l'anticorps pour l'antigène (Figure 16).

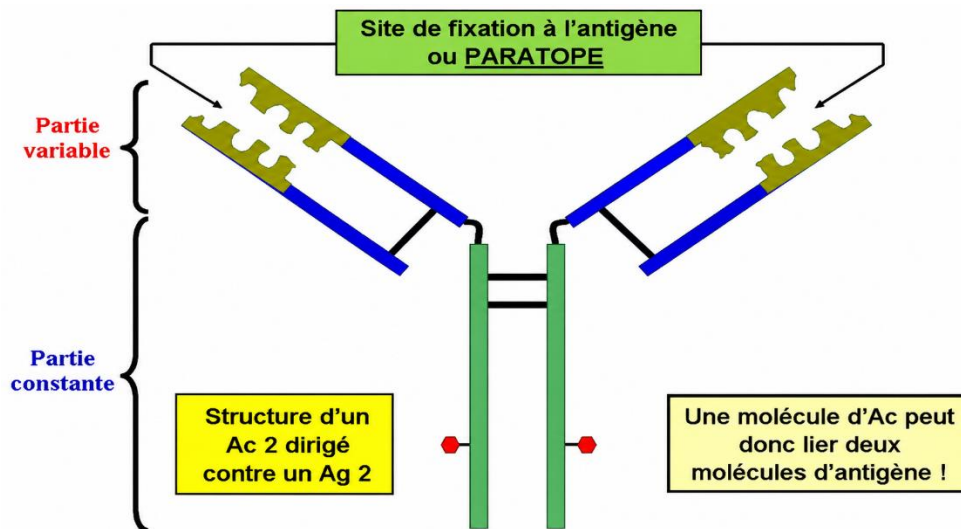


Figure 16 : site de fixation d'antigène

I.3.5.1. Fonctions effectrices portées par le fragment Fab

- ❖ Réactions de neutralisation des toxines bactériennes (Figure 17).
 - ✓ Toxine se fixe aux récepteurs cellulaires
 - ✓ Endocytose des complexes récepteurs -toxines
 - ✓ Dissociation des toxines et libération de la partie active (rouge) qui empoisonne la cellule.
 - ✓ L'anticorps protège la cellule en bloquant la fixation de la toxine.

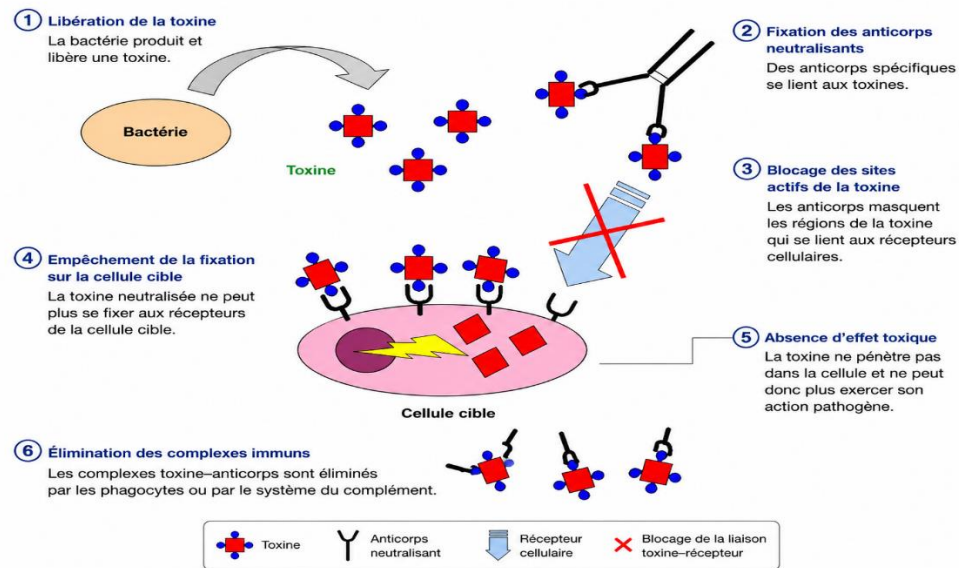


Figure 17 : les étapes de neutralisation d'une toxine

❖ Inhibition de l'adhésion bactérienne aux surfaces cellulaires (Figure 18)

- ✓ Colonisation des surfaces cellulaires par les bactéries grâce aux adhésines bactériennes.
- ✓ Certaines bactéries sont internalisées et se propagent dans des vésicules internes.
- ✓ Les anticorps contre les adhésines bloquent la colonisation et l'entrée des bactéries.

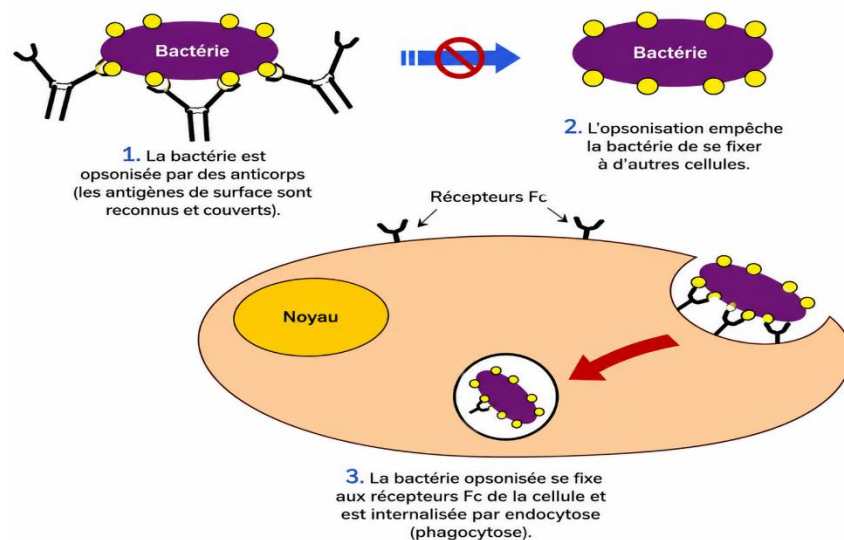


Figure 18 : les étapes Inhibition de l'adhésion bactérienne aux surfaces cellulaires

❖ Blocage de l'infectiosité des virus (Figure 19)

- ✓ Le virus se fixe aux récepteurs à la surface cellulaire.
- ✓ Endocytose du virus par l'intermédiaire d'un récepteur.

- ✓ L'acidification de l'endosome après endocytose induit la fusion du virus avec la cellule et l'entrée de l'ADN viral.
- ✓ L'anticorps bloque la fixation du virus sur son récepteur

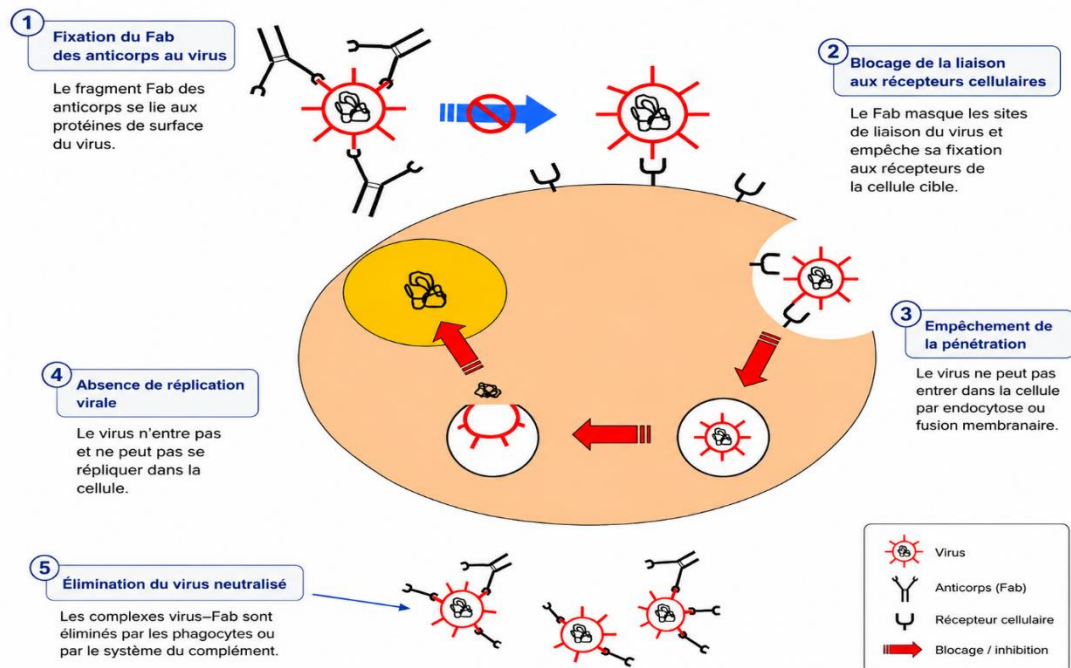


Figure 19 : Blocage d'un virus par la partie Fab d'Ig

I.3.5.2. Les fonctions liées au fragment Fc des immunoglobulines :

Trois fonctions effectrices essentielles, résultent de l'interaction entre le Fragment Fc des Ig et d'autres protéines sériques ou des récepteurs membranaires des cellules :

- ☐ L'activation de la voie classique du complément ;
- ☐ L'opsonisation ; qui est un marquage d'un agent pathogène pour faciliter sa phagocytose par les cellules immunitaires.
- ☐ La cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des Ac (ADCC).

I.3.6. Les classes des immunoglobulines :

Il existe plusieurs types de chaînes lourdes : μ , γ , α , δ et ϵ qui déterminent la classe des Ig (M, G, A, D, E) (figure 20) et deux types de chaînes légères : κ , λ .

Les cinq classes d'Ig diffèrent par leur capacité à effectuer les diverses fonctions effectrices, par leurs concentrations sériques moyennes et par leur demi-vie (Tableau II).

- 1) **L'IgG**, la classe la plus abondante du sérum, particulièrement importante pour éliminer les antigènes par divers mécanismes ; elle est aussi la seule classe à pouvoir traverser la barrière placentaire.
- 2) **L'IgM** sérique existe sous forme de pentamère ; en raison de sa valence élevée, l'IgM est plus efficace que les autres classes dans la neutralisation des virus, l'agglutination des bactéries, et l'activation du complément.
- 3) **L'IgA** L'IgA est la classe prédominante des sécrétions externes, notamment dans le lait et les sécrétions muqueuses. L'IgA sécrétoire est principalement présente sous forme de dimère relié par la chaîne J et associée au composant sécrétoire ; des formes polymériques plus complexes, telles que les tétramères, peuvent exister mais sont rares.
- 4) **L'IgD** est moins abondante du sérum. Le taux sérique faibles (25 à 40 mg/l), moins de 1 % des Ig sériques. L'IgD (avec l'IgM) est l'Ig membranaire des lymphocytes B matures.
- 5) **L'IgE**, sa concentration est très faible (3 mg/l en moyenne chez l'adulte). IgE médie la dégranulation des mastocytes.

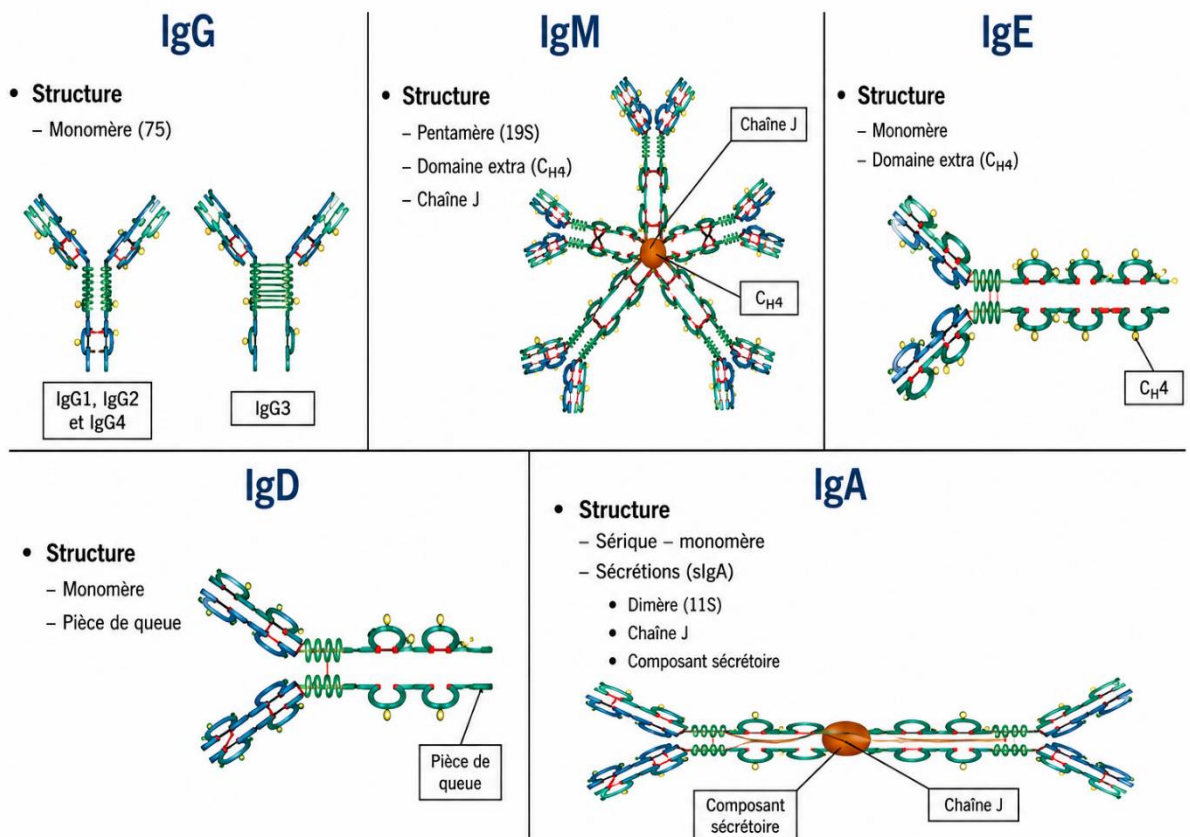


Figure 20 : Les différentes classes d'immunoglobulines

Tableau II : Les caractéristiques des classes des Igs

Propriété / Activité	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgA1	IgA2	IgM	IgE	IgD
Poids moléculaire (Da)	150 000	150 000	150 000	150 000	160 000 – 600 000	160 000 – 600 000	900 000	190 000	180 000
Chaîne lourde	$\gamma 1$	$\gamma 2$	$\gamma 3$	$\gamma 4$	$\alpha 1$	$\alpha 2$	μ	ϵ	δ
Taux sérique normal (mg/mL)	9	3	1	0,5	3	0,5	1,5	0,003	0,03
Demi-vie sérique (jours)	23	23	8	23	6	6	5	2,5	3
Activation de la voie classique du complément	+	+/-	++	-	-	-	++ +	-	-
Passage transplacentaire	+	+/-	+	+	-	-	-	-	-
Présence sur la membrane des lymphocytes B matures	-	-	-	-	-	-	+	-	+
Liaison aux récepteurs Fc des phagocytes	++	+/-	++	+	-	-	?	-	-
Transfert à travers les muqueuses	-	-	-	-	++	++	+	-	-
Induction de la dégranulation des mastocytes	-	-	-	-	-	-	-	++	-

I.4. Le système du complément

Le complément est un système de protéines sériques qui comporte une trentaine de constituants, solubles et membranaires. Il est impliqué dans la réponse innée aux infections, dans l'élimination des complexes immuns et dans la régulation de la réponse spécifique. Le complément doit son nom à sa découverte : il agit en complément des anticorps pour la lyse des bactéries, il est immédiatement recruté, et non spécifique d'un antigène donné. Le système du complément est une cascade enzymatique qui peut être activée selon trois voies distinctes : la voie classique, la voie alterne, et la voie des lectines. Ces trois voies aboutissent à la voie finale commune, ou formation du complexe d'attaque membranaire (MAC).

I.4.1. Protéines du complément :

Le système du complément fait partie de l'immunité innée, il est constitué d'un ensemble de protéines = Activateurs+ Régulateurs+ Récepteurs. Ces protéines plasmatiques (facteurs du complément) s'activent en cascade en présence de microorganisme ou de cellules altérées.

Les protéines du complément sont synthétisées principalement par :

1. **Les hépatocytes** (90 % des protéines solubles, sauf le **C1q**, le **facteur D**, le **C7** et le **facteur P**).
2. **La lignée myéloïde** : les monocytes et les macrophages (**C1q**).
3. **Les neutrophiles et les cellules endothéliales** : (**facteur P** = properdine).
4. **Les adipocytes** : pour le **facteur D**.

☐ Ces protéines du complément circulent dans le sérum sous forme **inactive**, comme des **pro-enzymes (zymogènes)**.

☐ Sont désignées par des numéros, des lettres ou des noms composés.

☐ Les fragments peptidiques formés par l'activation d'un composant :

- a) **Les grands fragments** : C'est les fragments catalytiques (sérine protéase) : c'est les plus grands appelé "b", ils se fixent près du site d'activation pour poursuivre la cascade enzymatique du système du complément.

- b) Les petits fragments :** C'est les fragments inhibiteurs : c'est les plus petits, appelé "a", ils ont une action à distance sur l'activation et le chimiotactisme des phagocytes. Ils induisent une inflammation locale.

Les protéines du complément sont très sensibles à la température (**thermolabiles**), d'où l'importance d'assurer un acheminement adéquat des prélèvements sanguins au laboratoire pour le dosage du complément.

I.4.2. Rôle du système du complément :

- a) L'activation du complément conduit à la formation à des anaphylatoxines :
- **C4a** et **C3a** qui recrutent des polynucléaires neutrophiles et des macrophages au site d'agression (chimiotactisme) donc c'est la réaction inflammatoire.
 - **C3b** qui se fixe sur les bactéries pour faciliter leur phagocytose (opsonisation).
- b) L'activation du complément conduit à la formation de pores CAM (complexe d'attaque membranaire) dans la membrane externe du microorganisme, conduisant à sa destruction (lyse cellulaire).
- c) L'activation se fait par clivages successifs des facteurs, ce qui entraîne la formation de fragments de facteur capables d'interagir avec les cellules de l'immunité adaptative : Lymphocytes B => Neutralisation des virus et élimination des complexes Ag-Ac et les dépose dans la rate ou le foie (régulation de la réponse adaptative).

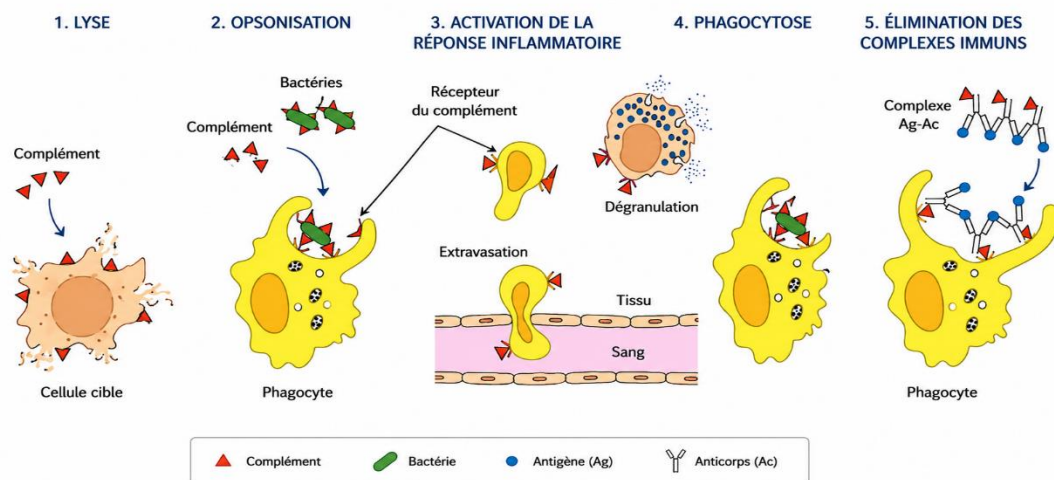


Figure 21 : Rôles du système du complément

I.4.3. Les voies d'activation du complément :

À la surface des cellules apoptotiques ou du pathogène, le système du complément peut être activé en cascade selon trois voies : la voie classique, la voie des lectines ou la voie alterne (Figure 22). Ces trois voies convergent pour aboutir à l'activation de la protéine C3 (C pour complément) et la formation du complexe d'attaque membranaire (CAM). Le CAM est à l'origine de la lyse des pathogènes ou de l'activation de certaines cellules de l'hôte. En dehors de leur action directe, chacune de ces voies peut induire des réponses inflammatoires et moduler les réponses immunitaires innée et adaptative conduisant ainsi à l'élimination des pathogènes, des complexes immuns et des cellules apoptotiques.

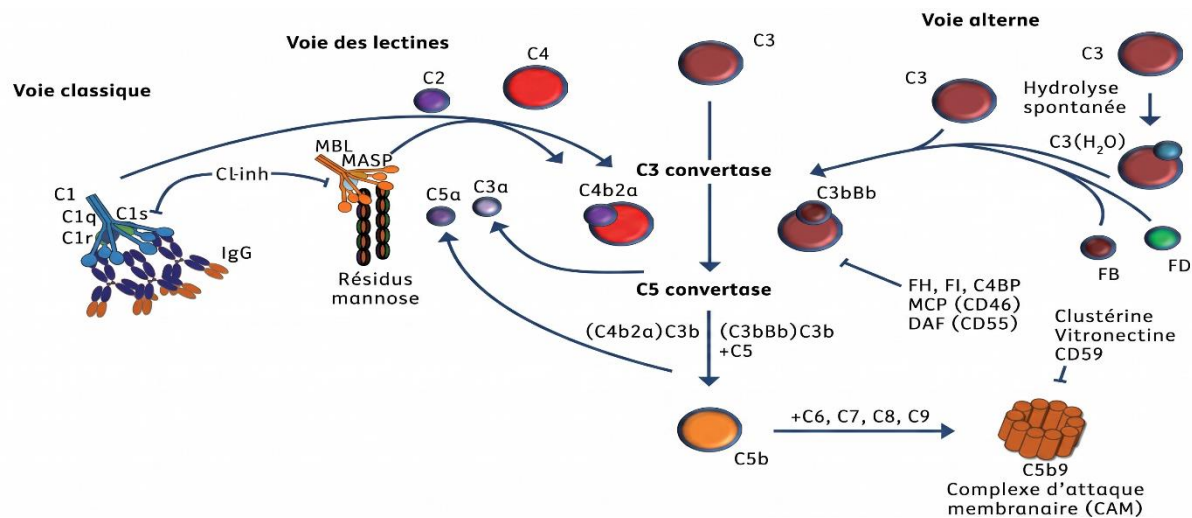


Figure 22 : les différentes voies d'activation du complément

I.4.3.1. La voie classique :

C1 est formé de trois molécules distinctes

C1q : dépourvu d'activité enzymatique, se lie au domaine Fc des IgM et des IgG

C1r : sérine protéase

C1s : sérine protéase

a) Activation : reconnaissance d'un complexe immunitaire et fixation du C1q sur le domaine C_H2 des Ac. Les IgM et certaines sous classes d'IgG peuvent se fixer sur le C1q et activer la voie classique du complément (Figure 23).

La portion Fc d'une immunoglobuline libre (sans antigène fixé sur le Fab) est incapable de lier C1q.

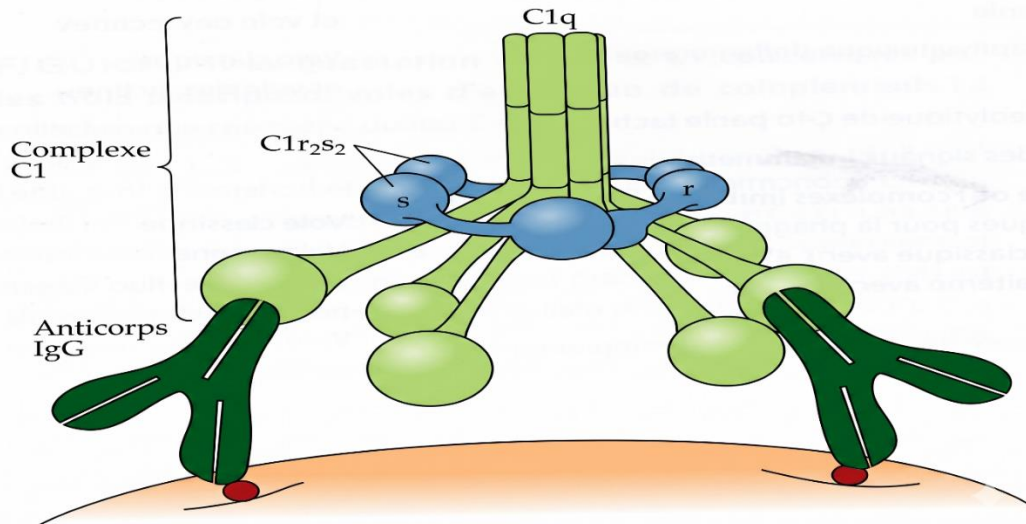


Figure 23 : Fixation du C1q sur le complexe immunitaire

b) Cascade enzymatique :

- Le C1q fixé sur un complexe immunitaire peut activer le C1r et le C1s, C1r et le C1s vont cliver les composants C4 et C2 en C4a, C4b, C2a et C2b. C2b et C4a sont libérés dans le plasma C4b et C2a vont se fixer sur une surface activatrice pour former le complexe C4b2a ou C3 convertase classique.
- Cette C3 convertase classique est capable de cliver le C3 en C3a qui est libéré, C3b qui va se fixer sur la surface à côté de C4b2a pour former la C5 convertase classique.

c) Phase effectrice : formation du CAM :

Le C5b, formé par la C5 convertase, se fixe sur un deuxième site membranaire, Il recrute les molécules C6, C7, C8 et plusieurs molécules C9 pour former le CAM. La polymérisation des molécules de C9 permet de créer des pores de 10 nm dans la membrane cellulaire, ce qui aboutit à sa lyse (figure 24).

- Cette étape est commune à toutes les voies d'activation du complément.

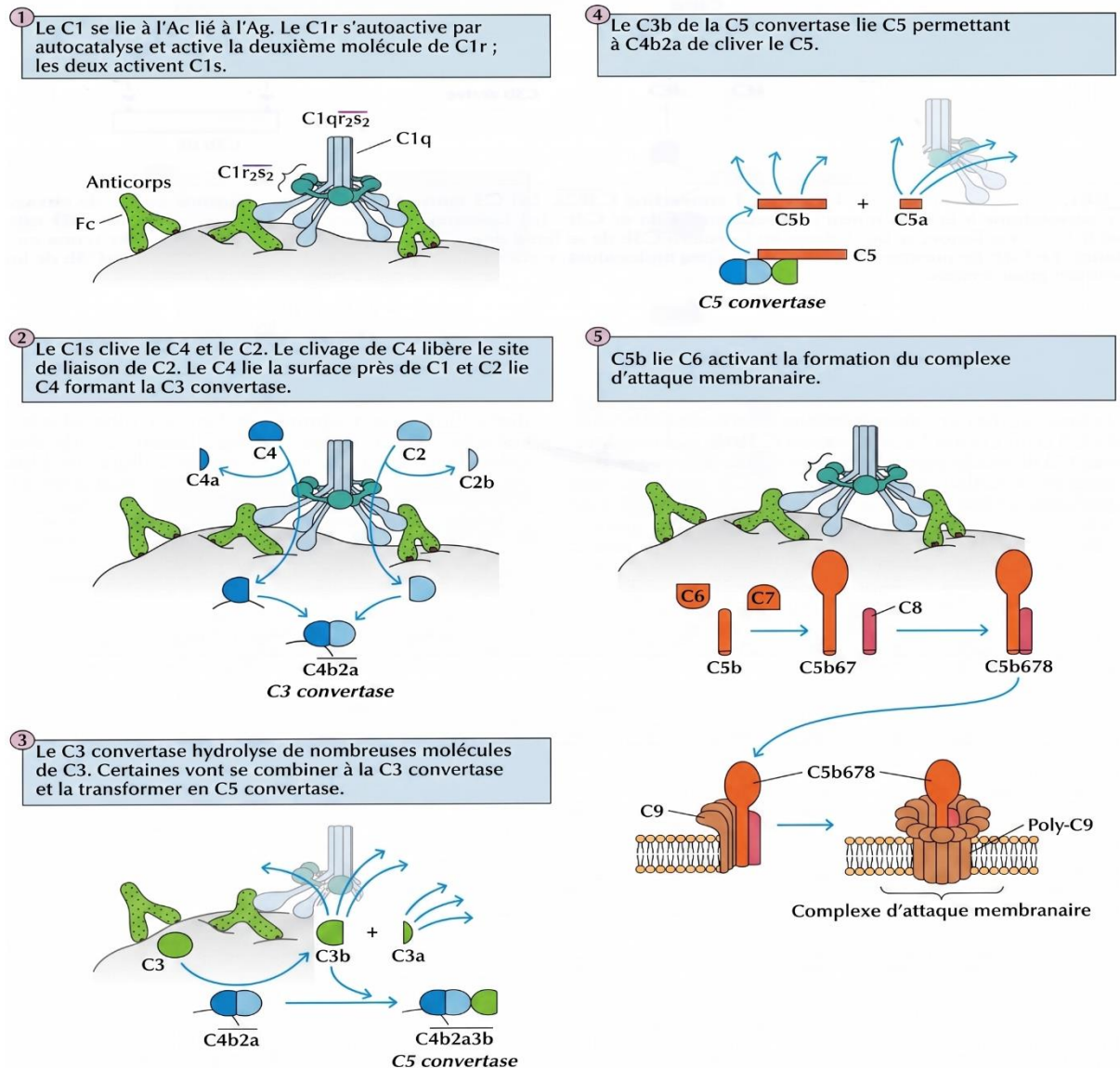


Figure 24 : Les étapes de la voie classique de l'activation du complément

I.4.3.2. La voie alterne du complément :

Cette voie elle est non liée à un complexe immunitaire et considérée comme constituant de l'immunité naturelle (figure 25).

- a) **Activation** : Cette voie implique quatre protéines sériques : Le C3, le facteur B, le facteur D et la properdine. Aboutit à l'activation du MAC (formation de C5b sans l'intervention d'anticorps).
- b) **Cascade enzymatique** :
 - Activation La voie alterne nécessite une surface activatrice (des lipopolysaccharides bactériens, certains composants de membrane de levure, etc..).

- La première étape est un clivage spontané du C3.
- Qui conduit à l'association du fragment C3b avec le facteur B.
- Ce complexe se fixe alors sur la membrane activatrice (sinon il est dégradé très rapidement), où le facteur D va venir cliver le facteur B en Ba et Bb.
- Ba est libéré, et sur la membrane se forme le complexe C3bBb ou C3 convertase alterne.
- Ce complexe est capable de cliver en continu des molécules de C3.

c) **La C3 convertase alterne** peut être stabilisée par la properdine,

- Elle va pouvoir alors cliver de nombreuses molécules de C3 qui vont se lier à du facteur B pour produire de nouvelles C3 convertase alternes, aboutissant ainsi à une boucle d'amplification.
- La fixation de plusieurs molécules de C3b à côté d'une C3 convertase alterne forme une C5 convertase alterne.
- La voie alterne rejoint alors la voie classique dans la voie finale commune

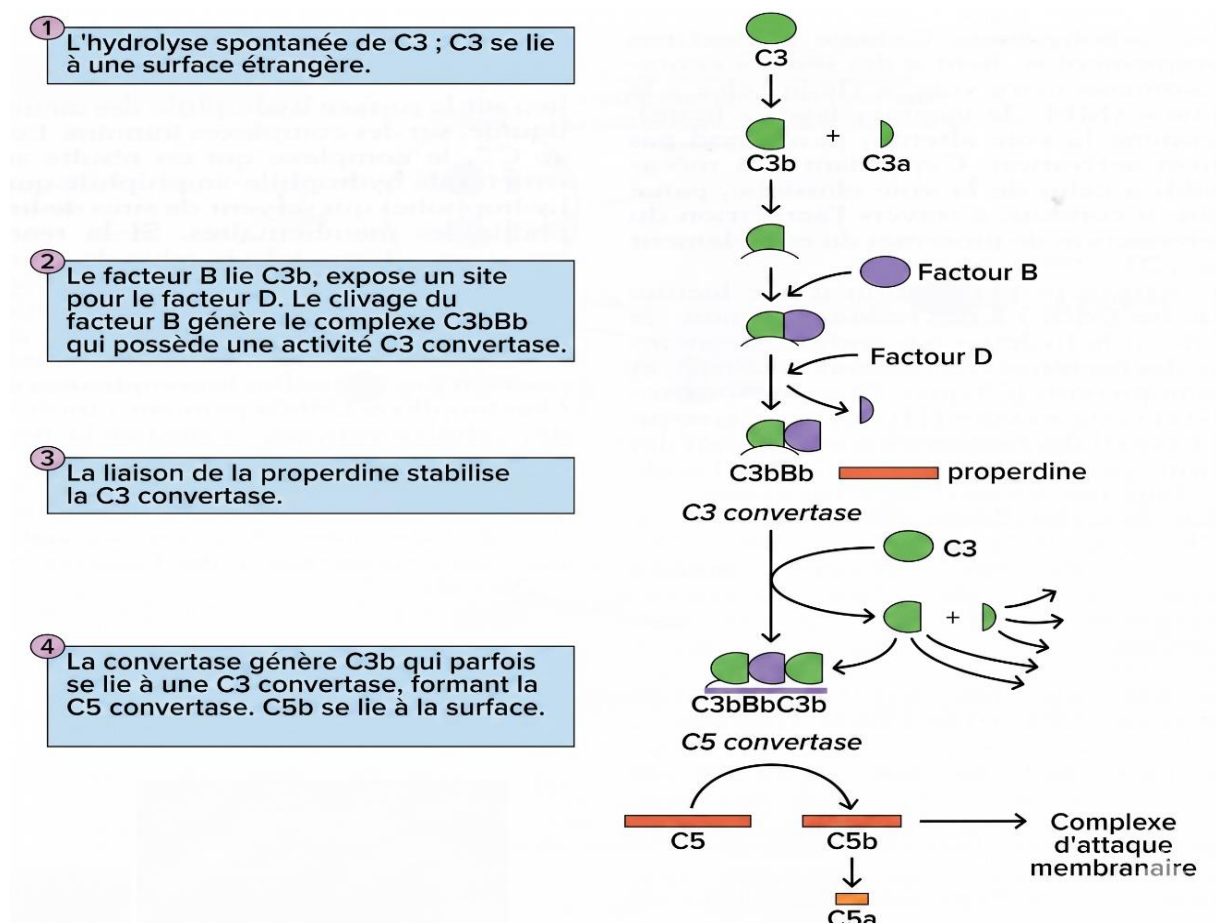


Figure 25 : les étapes d'activation de la voie alterne

I.4.3.3. La voie des lectines (Voie de MBL) :

- a) **Activation** : La voie des lectines est activée par la liaison de protéines à des surfaces microbiennes. Fait intervenir la MBP (mannose binding protein), une lectine de la même famille que C1q. L'activation de cette voie commence par la fixation du MBL à des résidus mannoses de glycoprotéines à la surface de micro-organismes comme des bactéries, des champignons et de certains virus (VIH).
- b) **La cascade enzymatique** : Une fois liée, la MBP recrute une protéase (la *mannose binding protein associated protease* ou MASP) qui est l'équivalent de C1s et dont les substrats sont C4 et C2. De découverte plus récente, cette troisième voie est moins bien connue. Elle est activée par les surfaces comportant du mannose (qui n'est pas présent sur les cellules humaines). La protéine initiatrice de cette voie est la Mannose Binding Lectine (MBL). Elle se fixe spécifiquement sur le mannose, et active les MASP1 et 2 (Mannose associated serin protease). Les MASP sont capables de cliver le C2 et le C4 et de rejoindre ainsi la voie classique (formation du complexe C4b2a ou C3 convertase).

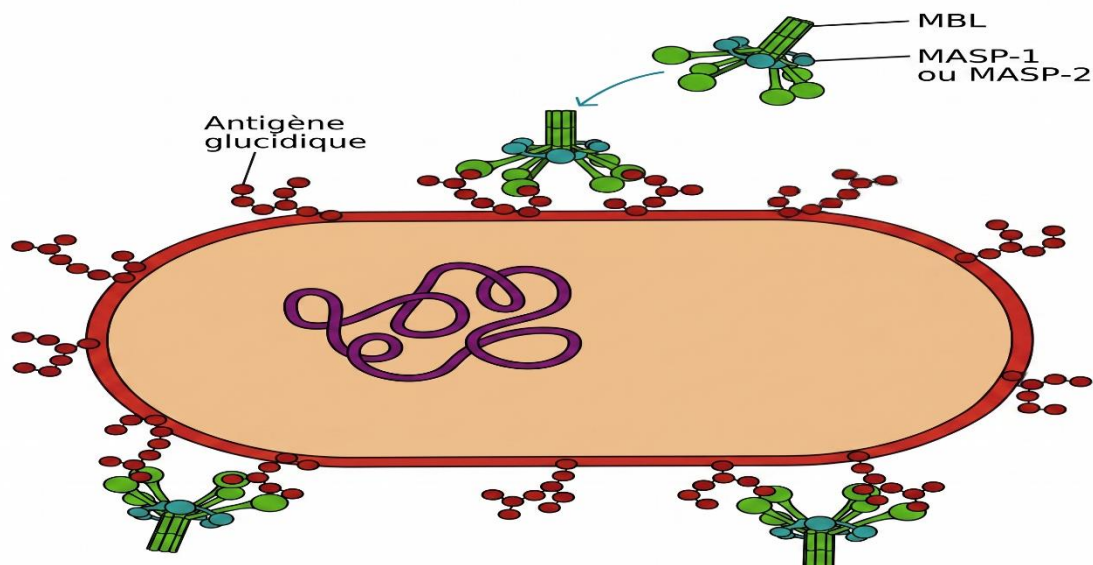


Figure 26 : Activation de la voie des lectines

I.4.4. Régulation du système du complément

L'activation du système du complément doit être étroitement contrôlée afin d'éviter des lésions des cellules de l'organisme. Cette régulation protège les cellules de l'hôte tout en maintenant l'efficacité de la réponse immunitaire contre les agents pathogènes.

La régulation du complément s'effectue principalement à trois niveaux :

1. **L'inhibition de l'activation des protéases** impliquées dans la cascade du complément.

2. **La dissociation et la dégradation des convertases** (enzymes clés de la cascade).
3. **L'inhibition de la formation du complexe d'attaque membranaire (CAM ou MAC).**

A. Régulation protéique de l'activation du complément

La majorité des protéines régulatrices du complément sont codées par les gènes du complexe **RCA (Regulators of Complement Activation)** localisé sur le chromosome 1 chez l'Homme.

Ces protéines empêchent une activation excessive ou inappropriée du complément en agissant à différentes étapes de la cascade.

1. Régulation par inactivation des facteurs du complément

Certaines protéines régulatrices favorisent l'inactivation des composants activés du complément. Le principal régulateur est le **facteur I**, une sérine protéase qui clive et inactive les fragments C3b et C4b.

Cette action nécessite des cofacteurs tels que :

- **Le facteur H** (voie alterne)
- **MCP (Membrane Cofactor Protein ou CD46)**
- **CR1 (Complement Receptor 1 ou CD35)**

L'inactivation de C3b et C4b empêche la poursuite de la cascade du complément.

2. Régulation par dissociation des convertases

Les convertases C3 et C5 sont des complexes enzymatiques essentiels à l'amplification de la réponse du complément.

Plusieurs protéines régulatrices provoquent leur dissociation :

- **DAF (Decay Accelerating Factor ou CD55)**
- **CR1 (CD35)**
- **Facteur H**

Ces protéines accélèrent la dégradation des convertases C3 et C5, limitant ainsi la production de médiateurs inflammatoires et l'opsonisation excessive.

B. Régulation de la formation du complexe d'attaque membranaire (CAM)

Le complexe d'attaque membranaire (CAM ou MAC) est formé par l'assemblage des composants C5b, C6, C7, C8 et de plusieurs molécules de C9. Il provoque la lyse des cellules cibles en créant des pores dans leur membrane.

Pour protéger les cellules de l'hôte, plusieurs protéines régulatrices inhibent sa formation.

1. CD59 (Protectine)

La protéine **CD59** est le principal inhibiteur membranaire du complexe d'attaque membranaire.

Elle agit en empêchant la polymérisation du C9 et donc la formation du pore membranaire, bloquant ainsi la lyse cellulaire.

2. Importance du glycosylphosphatidylinositol (GPI)

Les protéines CD55 et CD59 sont ancrées à la membrane cellulaire grâce à un glycolipide appelé **glycosylphosphatidylinositol (GPI)**.

Une mutation entraînant un déficit en GPI empêche l'expression correcte de ces protéines à la surface cellulaire.

L'absence de CD55 et de CD59 rend alors les cellules, notamment les globules rouges, particulièrement sensibles à l'action du complément, ce qui peut conduire à une destruction cellulaire excessive, comme observé dans l'**hémoglobinurie paroxystique nocturne**.
Hémoglobinurie paroxystique nocturne.

Conclusion

La régulation du système du complément repose sur un ensemble de protéines plasmatiques et membranaires qui contrôlent l'activation de la cascade, favorisent l'inactivation des composants activés, dissocient les convertases et empêchent la formation du complexe d'attaque membranaire. Ces mécanismes sont indispensables pour protéger les cellules de l'hôte contre les effets potentiellement délétères d'une activation incontrôlée du complément.

RÉGULATION DU SYSTÈME DU COMPLÉMENT

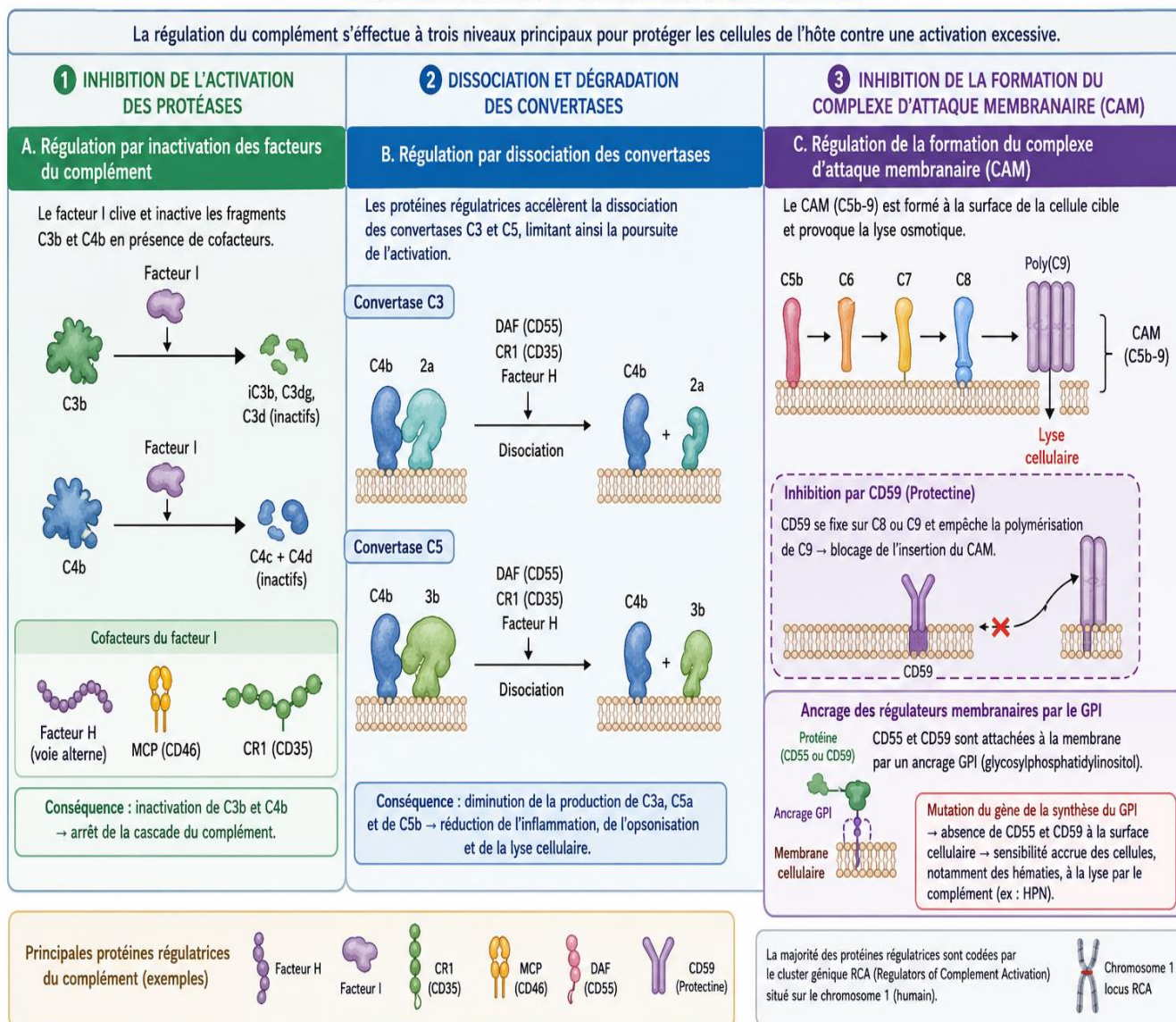


Figure 27 : Régulation du système du complément

II.1. Interactions anticorps-antigènes

L'immunologie appliquée est une discipline qui vise à appliquer les connaissances fondamentales de l'immunologie à des problèmes médicaux spécifiques, tels que le diagnostic, la prévention et le traitement des maladies. Elle implique l'utilisation de techniques et de concepts immunitaires pour comprendre et contrôler les réponses immunitaires pathologiques, ainsi que pour développer des stratégies thérapeutiques efficaces.

II.1.1. Les bases moléculaires de la réaction : Un immuno-complexe (figure 28) est formé entre des anticorps et antigène, ayant des paratopes et épitopes assortis. Donc l'interaction s'effectue Entre : L'épitope de l'Ag (ou déterminant antigénique) et le paratope de l'Ac (ou régions de complémentarité : CDR).

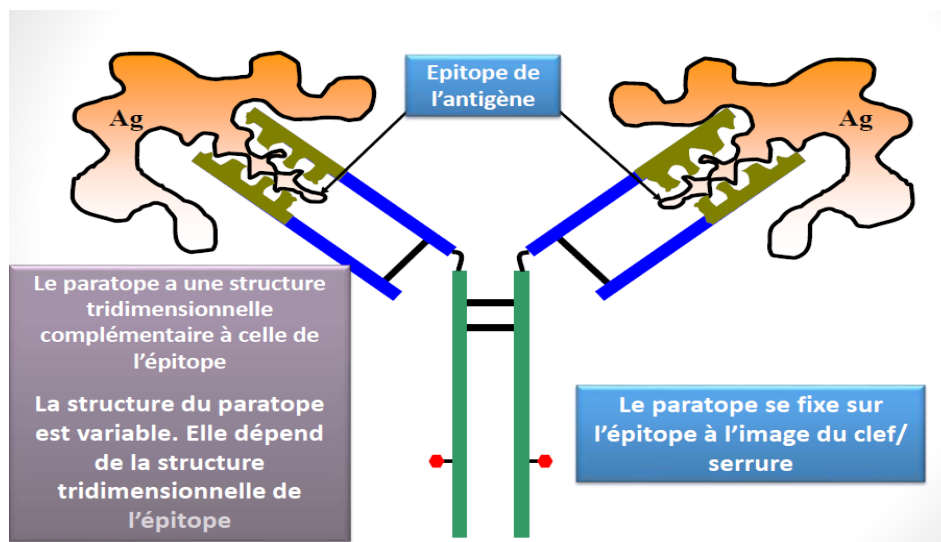


Figure 28 : le complexe immunitaire (Ac-Ag)

- ❖ La complémentarité entre épitope et paratope induit la formation du complexe immunitaire :
- ✓ Si l'épitope correspond au paratope alors il y a présence d'une force d'attraction, sinon on a une force de répulsion.
- ✓ L'interaction entre Ac-Ag est une combinaison spécifique et réversible des Ac et Ag correspondant.

➤ Les aspects de l'interaction

a. Forces attractives intramoléculaires : Il s'agit d'un ensemble de forces qui fusionnent les Ac aux Ag correspondants (figure 29). Il existe 4 types de forces non covalentes (Tableau III); dépendantes de la complémentarité entre les sites d' AC et les déterminant des Ag.

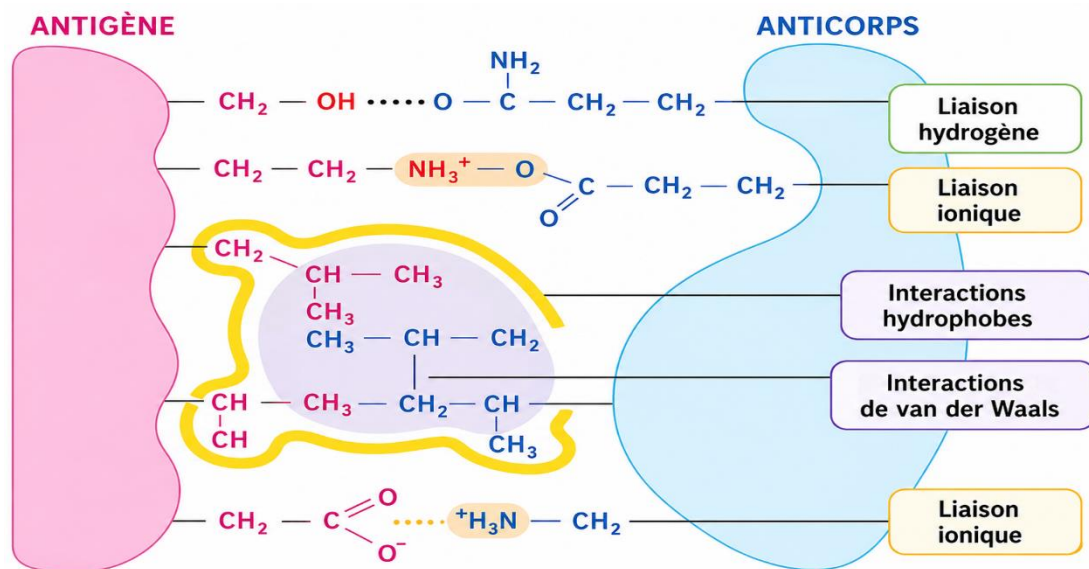


Figure 29 : Les différentes forces qui relient l'Ac et l'Ag

Tableau III : Les types de forces non covalentes de la liaison Ac-Ag

Forces non covalentes	Application	Schématisation
Liaisons hydrogène	Deux atomes électronégatifs partagent un atome d'hydrogène	
Liaison hydrophobes	L'interaction est difficile entre les groupes hydrophobes et l'eau qui se réunit pour exclure l'eau	
Forces de Van Der Waal	Résultent de la fluctuation des nuages électroniques de charge opposé autour des molécules.	
Forces électrostatiques ou ioniques	attraction entre atomes de charges opposées	

- b. **L'affinité** : la force des interactions entre un seul site de fixation de l'Ag sur un Ac et un seul épitope. L'affinité dépend du nombre et de la force des liaisons formées entre l'épitope et le paratope. Il est la somme des forces d'attraction et de répulsion agissant entre le déterminant antigénique et le site de liaison de l'anticorps tel que représenté sur la Figure 30, plus l'affinité de l'anticorps pour l'antigène sera élevée et plus l'interaction sera stable.

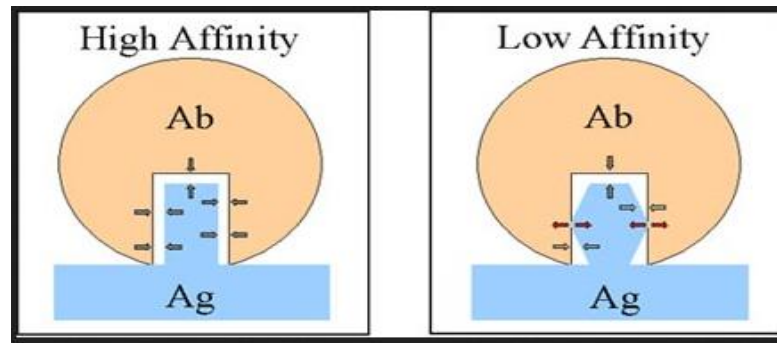


Figure 30 : la forte et faible affinité entre l'épitope et le paratope

- c. **L'avidité** : Résultante des interactions entre les déterminants multiples et répétés d'un antigène et les sites de liaisons multiples d'un anticorps. L'avidité est supérieure à la somme des affinités différentes. Ceci est illustré dans la Figure 31. L'avidité est influencée à la fois par la valence de l'anticorps et la valence de l'antigène, tout comme la température, le pH et la force ionique.

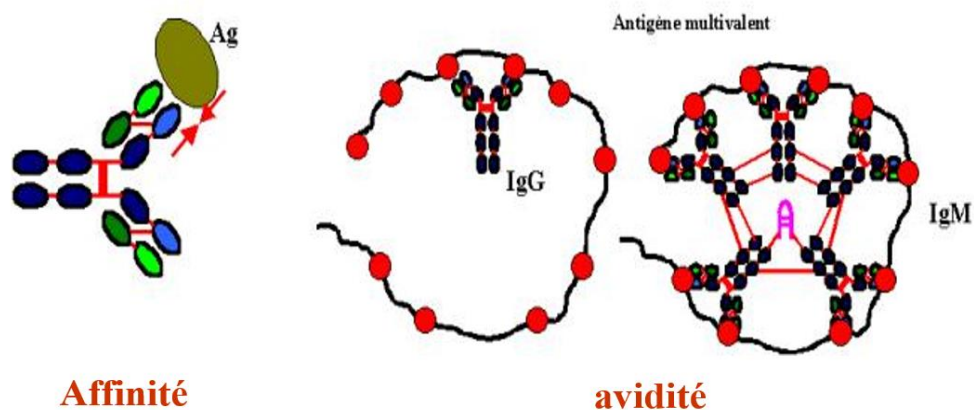
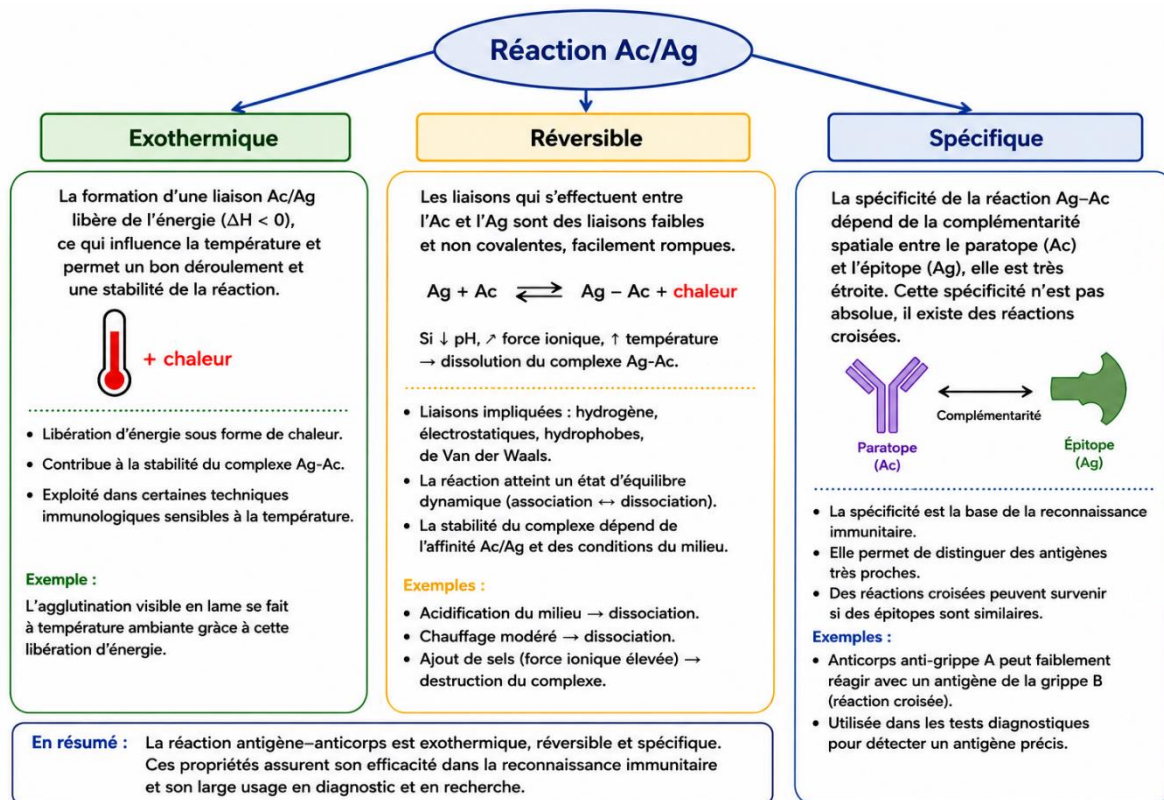


Figure 31 : l'Affinité et l'avidité

II.1.2. Les caractéristiques de la réaction Ac-Ag : Les réactions antigène-anticorps (Ac-Ag) constituent la base de la réponse immunitaire humorale. Elles résultent de la liaison spécifique entre un antigène et l'anticorps correspondant, grâce à une complémentarité structurale entre leurs sites de reconnaissance. Ces interactions possèdent plusieurs caractéristiques essentielles qui déterminent leur efficacité biologique et leur rôle dans les mécanismes de défense de l'organisme.



II.1.3. Les champs d'application : L'interaction antigène-anticorps possède de nombreuses applications dans les domaines médical, biologique et biotechnologique. Grâce à sa grande spécificité, elle est largement exploitée pour le diagnostic, la prévention et le traitement de diverses maladies, ainsi que dans la recherche scientifique.

A) Identification et/ou dosage d'un Ag :

- ✓ Identification d'une cellule
- ✓ Identification d'un agent infectieux
- ✓ Identification et/ou dosage d'une protéine
- ✓ Dosage d'une hormone
- ✓ Dosage d'un médicament ...

B) Mise en évidence et/ou titrage d'un Ac :

- ✓ Diagnostic et suivi sérologique d'une infection
- ✓ Sérologies bactériennes : Fièvre typhoïde, syphilis ...
- ✓ Sérologies virales : Hépatites, grippe, rubéole, HIV ...
- ✓ Sérologies parasitaires : Toxoplasmose ...
- ✓ Contrôle de vaccination
- ✓ Diagnostic et suivi sérologique d'une maladie auto immune
- ✓ Diagnostic sérologique d'une allergie
- ✓ Suivi d'une grossesse
- ✓ Suivi d'une transplantation

C) Applications analytiques des réactions anticorps-antigène/ Techniques possibles :**▪ Méthodes n'utilisant pas de marqueur : observation directe**

- Immunoprécipitation
- Agglutination
- Neutralisation
- Immunochromatographie

▪ Méthodes utilisant un marqueur : observation indirecte

- Radioimmunologie
- Immunoenzymologie
- Immunofluorescence.

II. Techniques immunologiques :

Les techniques immunologiques sont des méthodes d'analyses utilisées en immunologie pour étudier, identifier et quantifier les composants du système immunitaire, comme les antigènes, les anticorps, les cellules et les cytokines. Elles sont largement employées dans les domaines de la recherche biomédicale, du diagnostic clinique et du développement de vaccins. Les techniques immunologiques sont principalement basées sur une interaction entre l'anticorps et l'antigène. Les techniques immunologiques peuvent être classées en deux grandes catégories : les méthodes sans marqueur, qui reposent sur l'observation directe de la réaction antigène-anticorps, et les méthodes avec marqueur, qui utilisent un signal détectable (enzymatique, fluorescent, radioactif ou chimioluminescent) pour mettre en évidence et quantifier cette interaction.

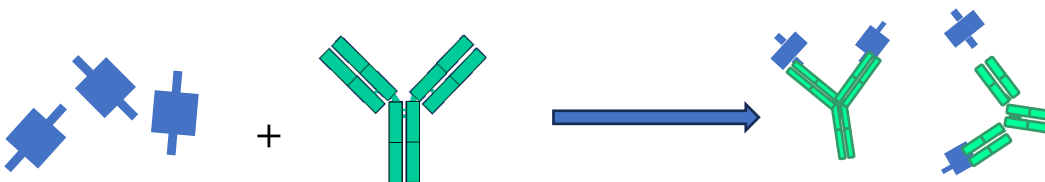
❖ Méthodes n'utilisant pas de marqueur : observation directe

II.2. Réaction de précipitation (immunoprécipitation) :

II.2.1. Principe

Les réactions de précipitation ont lieu entre un anticorps et un antigène soluble : soit en milieu liquide ou gélifié. Chaque molécule d'Ag multivalent peut fixer plusieurs molécules d'Ac et chaque molécule d'Ac est liée à plus d'une molécule d'antigène. Ce qui influence la taille des agrégats formés qui deviennent importante et leur solubilité diminue, si la masse des agrégats dépasse les forces qui les maintiennent en solution, ils peuvent devenir insolubles et se précipiter.

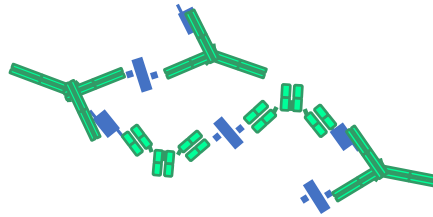
Ag solubles + Ac précipitants spécifiques $\Rightarrow$ Formation de complexes immuns



→ Conditions optimales : Antigène multivalent et anticorps spécifique donc rapport de concentration optimum :

Équivalence et conditions physicochimiques adaptées
(pH, T°, force ionique ...) ⇒ **Formation d'un réseau tridimensionnel :**

Précipité : insoluble, visible



II.2.2. Les types de réaction de précipitation : Les tests d'immunoprécipitation reposent sur la formation d'un complexe antigène-anticorps insoluble. Selon le milieu de réaction et la méthode utilisée, ils peuvent être classés en plusieurs techniques, comme l'illustre la figure 32.

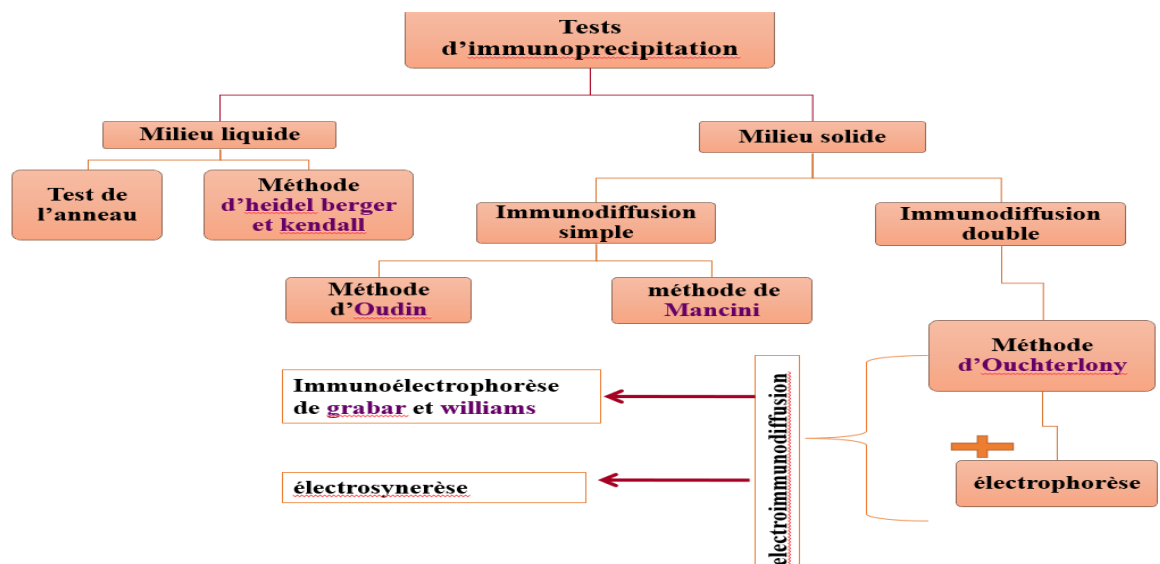


Figure 32 : Les différents types de réaction d'immunoprécipitation

II.2.2.1. Immunoprécipitation en milieu liquide

- a) **Test de l'anneau (ring-test) :** Techniques qualitatives, basées sur la diffusion des Ac et des Ag solubles (non mélangé), qui aboutissent lorsqu'il y a autant de paratope que d'épitopes (à l'équivalence) à la formation d'un anneau de précipitation (Figure 33). Plus il y a d'antigène, plus l'anneau est bas.

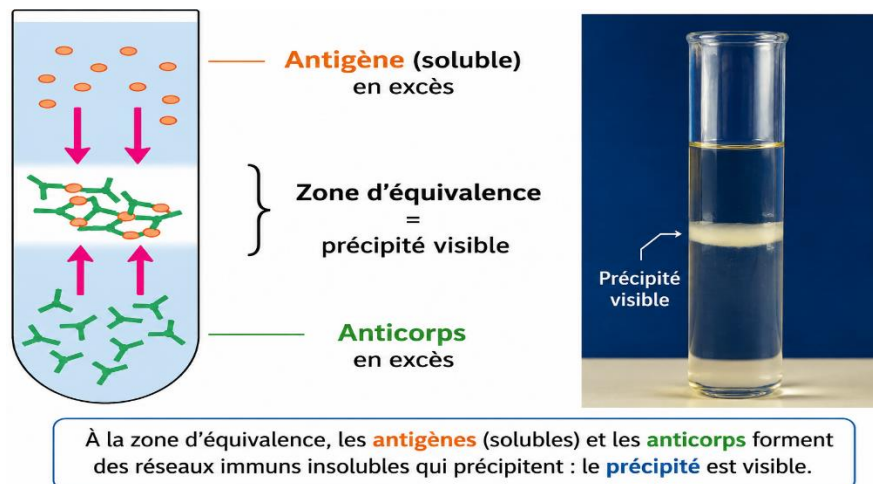


Figure 33 : Le test de l'anneau (Ring test)

b) Technique de Heidelberg et Kendall :

On mélange dans des tubes une quantité constante d'Ac, et une quantité croissante d'Ag, on centrifuge les tubes, et on compare la quantité de précipité en fonction de la concentration d'Ag (Figure 34). En effet, dans la réaction de précipitation, si des quantités croissantes d'antigène soluble sont ajoutées à une quantité connue de sérum contenant l'anticorps à doser, on observe dans un premier temps une corrélation directe entre la quantité d'antigène apportée et la quantité de précipité. La courbe de précipitation atteint alors un maximum et si la quantité d'antigène augmente encore, on note que la quantité de précipité tend cette fois à diminuer.

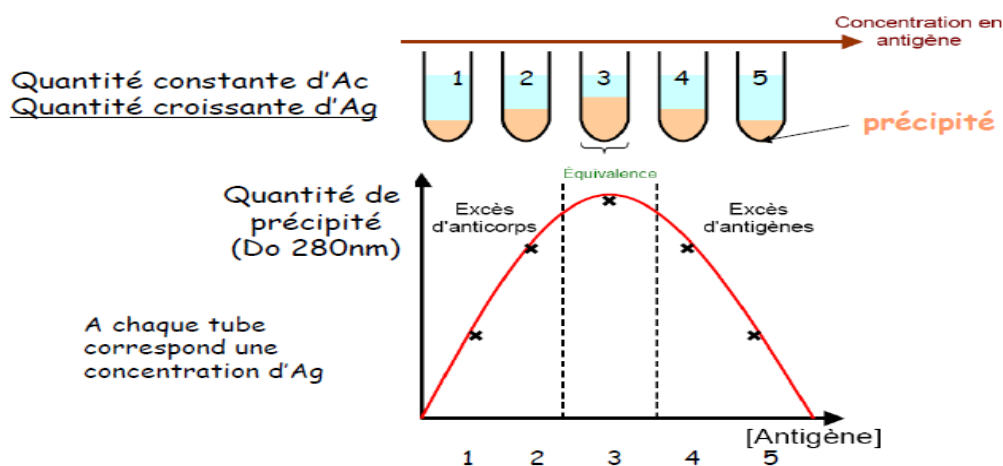


Figure 34 : Expérience de Heidelberg et Kendall

- ❖ **Situation d'excès d'anticorps :** Lorsque de faibles quantités d'antigène sont ajoutées à l'anticorps, les complexes Ag/Ac sont formés dans des conditions où l'anticorps est en excès. Ainsi, chaque molécule d'Ag est couplée à plusieurs molécules d'anticorps.

Dr BOUDJOU-MECHOUCHE S.

- ❖ **Zone d'équivalence** : Au fur et à mesure que la quantité d'antigène augmente, certains anticorps vont pouvoir lier plusieurs antigènes différents. A la zone d'équivalence, lorsque toutes les molécules d'Ac sont liées à deux molécules d'antigènes différentes, il se forme alors un grand réseau qui favorise la réaction de précipitation.
- ❖ **Situation d'excès d'antigène** : Lorsque la quantité d'antigène est très élevée, seuls de petits complexes peuvent se former, la taille réduite de ces complexes favorise leur solubilité expliquant ainsi l'inhibition de la réaction de précipitation observée en excès d'antigène (figure 35).

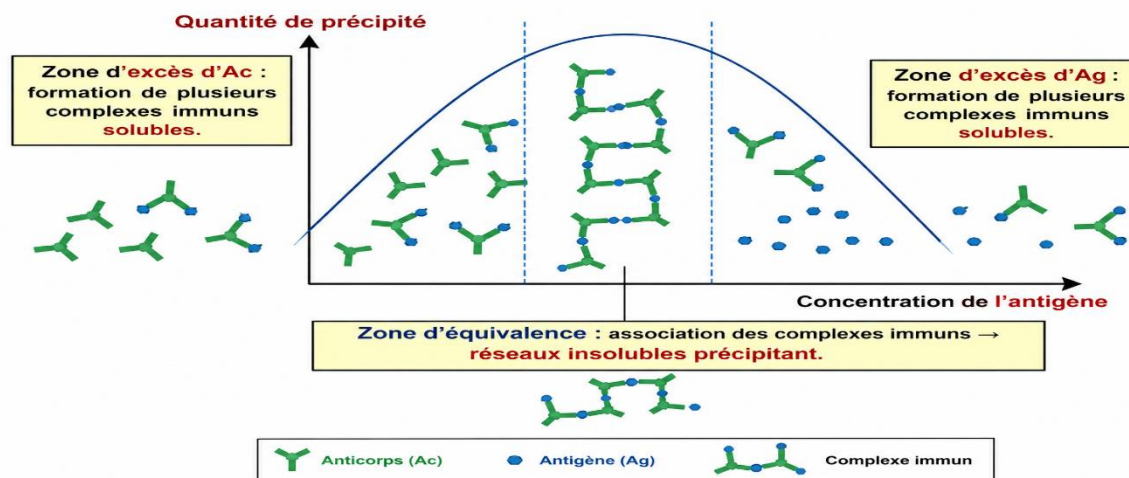


Figure 35 : Résultats d'expérience de Heidelberg et Kendall

c) Immunonéphélométrie et immunoturbidimétrie :

C'est des techniques d'immunoprécipitation quantitatives en milieu liquide. La précipitation de complexes antigène/anticorps en milieu liquide peut permettre un dosage très précis des antigènes. En effet, la formation de ces complexes entraîne une augmentation de la turbidité du milieu qui, à concentration d'anticorps constante, ne dépend que de la quantité de l'antigène à doser. Les variations de turbidité du milieu sont mesurées à l'aide d'un néphélomètre. Cet appareil possède un rayon laser dont le faisceau traverse la cuve où a lieu la réaction antigène/anticorps. L'augmentation de turbidité du milieu entraîne une déviation du faisceau qui est analysée par des photomultiplicateurs et comparée à la déviation obtenue avec des quantités connues d'antigène. On en déduit la quantité d'antigène présente dans l'échantillon à doser. Ce principe est couramment employé pour doser une multitude de protéines sériques comme par exemples les immunoglobulines ou les fractions du complément. Deux techniques

se différencient par l'angle d'observation sous lequel la lumière dispersée est mesurée, par rapport à l'axe de propagation de la lumière incidente :

➤ **Immunonéphélémétrie :**

- ✓ Traversée du mélange par un faisceau lumineux monochromatique de haute intensité.
- ✓ Déviation de la lumière par des complexes immuns en milieu liquide (figure 36 A)
- ✓ Mesure de la diffraction de la lumière provoquée par les complexes immuns
- ✓ Le néphélémètre est l'appareil quantifiant l'intensité lumineuse dispersée.

➤ **Immunoturbidimétrie :**

- ✓ Technique quantitative
- ✓ Traversée du mélange par un faisceau lumineux (figure 36 B)
- ✓ Mesure, au spectrophotomètre, de l'absorbance de la lumière par les complexes immuns (lumière absorbée et transmise)

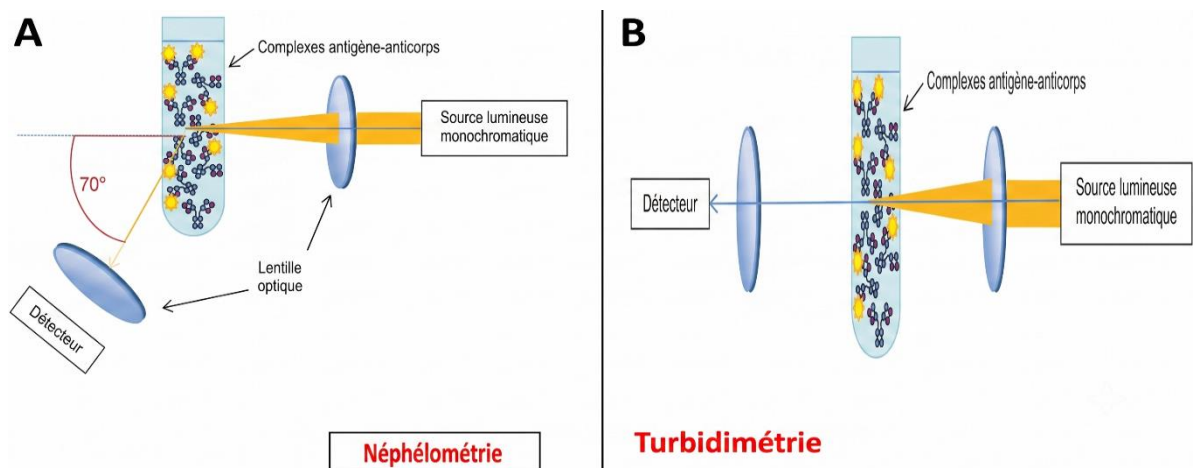


Figure 36 : Immunonéphélémétrie (A), Immunoturbidimétrie (B)

II.2.2.2. Immunoprécipitation en milieu gélifié :

a) Immunodiffusion simple (Technique d'Oudin):

La technique d'immunodiffusion en tube de Oudin consiste à couler dans un tube une solution d'agar contenant un antiserum (Ac) et de déposer sur l'agar après gélification une solution d'Ag qui diffusera dans le gel formant un gradient de concentration. La précipitation a lieu à l'endroit où les concentrations en Ag et Ac correspondent à la zone d'équivalence (figure 37).

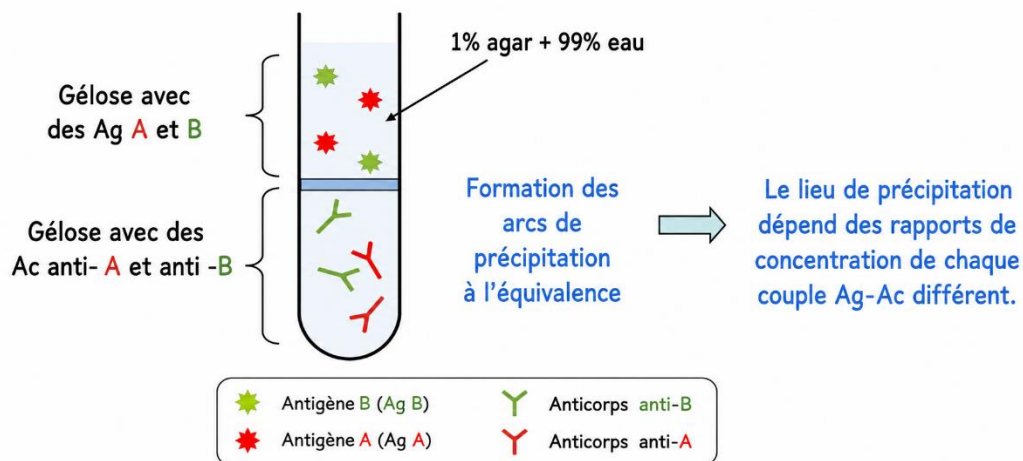


Figure 37 : Immunodiffusion simple

b) Immunodiffusion simple radiale (Technique de Mancini) :

- ❖ C'est une technique quantitative, consiste à incorporer des Ac spécifique dans la gélose encore chaude (liquide) et couler sur une boîte de Pétri ou plaque en verre.
- ❖ Dans des puits creusés dans l'agarose, on dépose des quantités connues de l'antigène, ainsi que l'antigène à doser.
- ❖ Après diffusion on observe des cercles de précipitation dont le diamètre est proportionnel à la concentration d'antigène (figure 38).

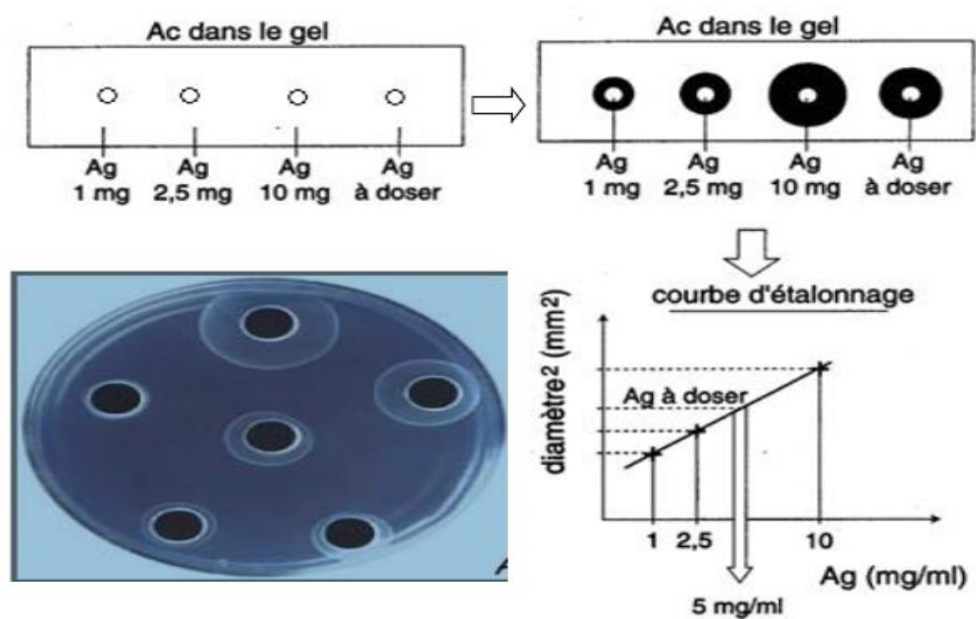


Figure 38 : Technique de Mancini

Dr BOUDJOU-MECHOUCHE S.

❖ Donc l'établissement d'une courbe étalon à partir de solutions contenant des concentrations connues et croissantes d'Ag permet de préciser la concentration d'une solution inconnue du même Ag par la simple mesure du diamètre du cercle de précipitation. On mesure le diamètre du disque de l'échantillon à doser, on le rapporte sur la courbe et on extrapole la concentration de cet antigène (Figure 38).

c) Immunodiffusion double (Technique d'Ouchterlony):

- ❖ La méthode de double diffusion en gel d'Ouchterlony est une méthode d'immunoprécipitation fondée sur la double diffusion Ag et Ac dans un gel en fonction de leur PM. Elle permet l'analyse qualitative d'un mélange d'Ag en solution.
- ❖ Un gel d'agar est coulé dans une boîte de pétri (ou une lame). Ensuite des puits sont creusés dans le gel (solide) et sont remplis d'anticorps sérique, au centre, et les solutions d'antigènes connus, en périphérie (figure 39).

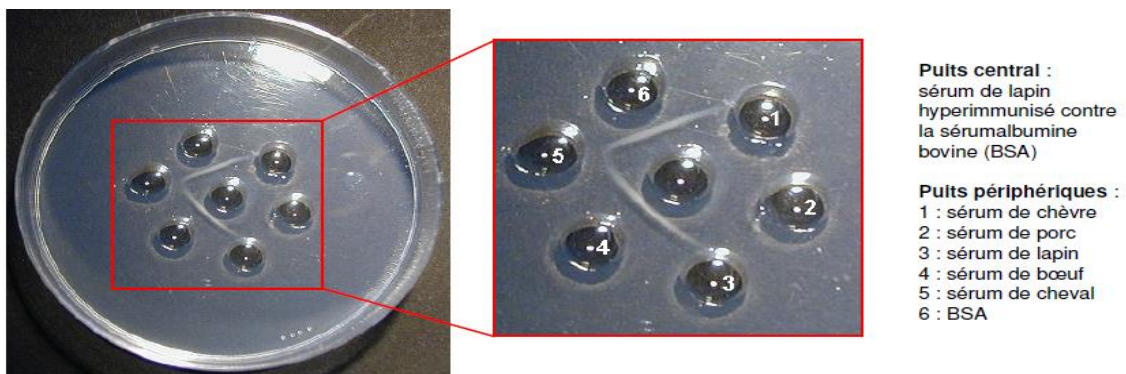


Figure 39 : Technique d'Ouchterlony

- ❖ Ce test est fréquemment utilisé pour comparer différentes préparations d'antigènes. La méthode est appelée double car l'antigène et l'anticorps diffusent dans l'agar et lorsque l'Ag et l'Ac se rencontrent, ils se combinent et précipitent en donnant une ligne de précipitation (au niveau des zones d'équivalence, proportions optimales) (figure 40).

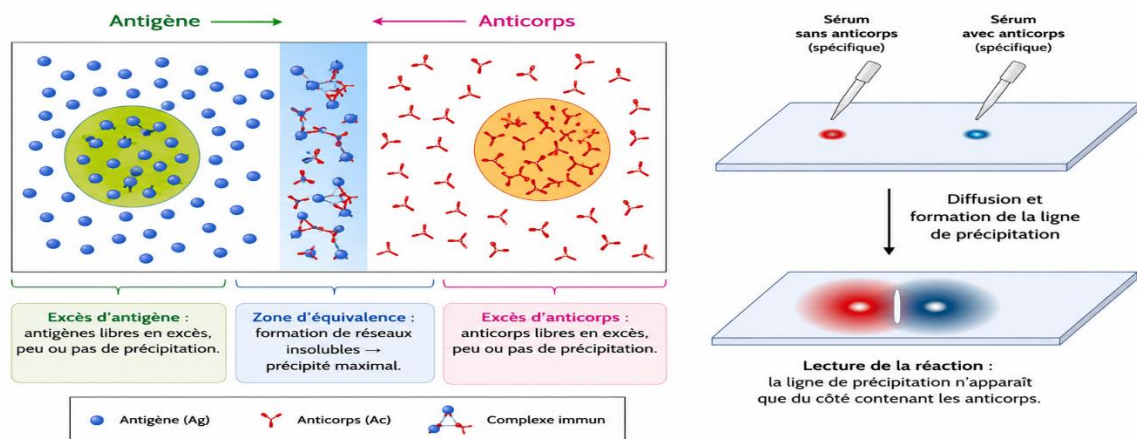


Figure 40 : le principe d'Immunodiffusion double

❖ Il est possible de comparer les arcs de précipitation de plusieurs préparations antigéniques vis-à-vis d'un même antisérum (figure 41) :

- 1) Les lignes issues de deux systèmes antigènes-anticorps identiques fusionnent et se raccordent pour former qu'une seule ligne continue : réaction **d'identité antigénique**.
- 2) Les lignes issues de deux systèmes antigènes-anticorps, qui partagent une partie des épitopes reconnus, se raccordent en donnant une image « en éperon » : réaction **d'identité partielle**.
- 3) Les lignes formées par 2 systèmes antigènes anticorps indépendants se coupent sans interférer : réaction de **non identité antigénique**.

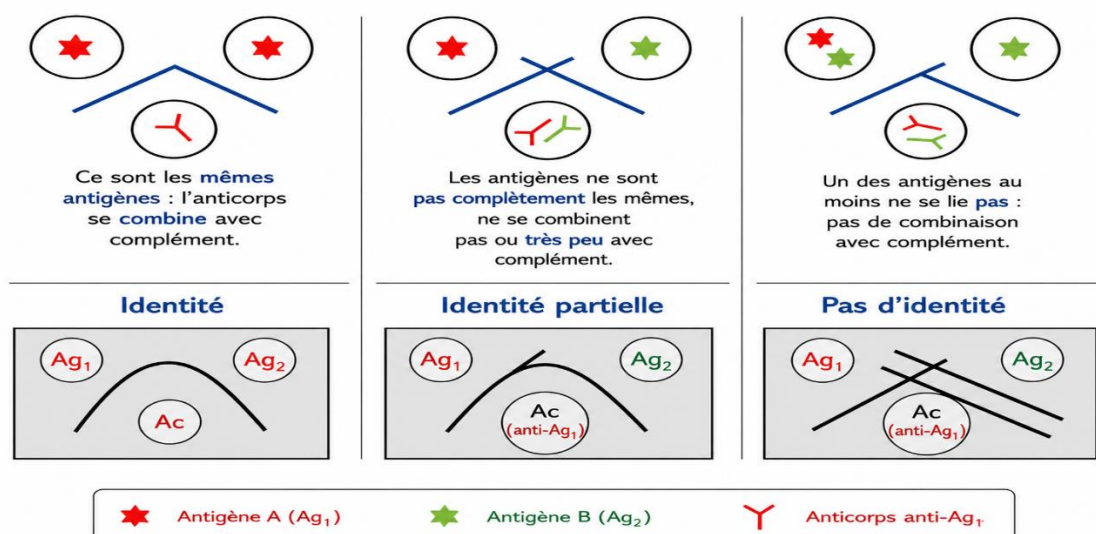


Figure 41 : comparaison des arcs de précipitation Ac-Ag

d) Immunoélectrophorèse (Grabar et Williams) :

Cette technique renforce le pouvoir analytique des doubles diffusions en identifiant les constituants d'un mélange par deux propriétés indépendantes, leur mobilité électrophorétique et leur spécificité antigénique.

- 1) Dans un premier temps, les molécules antigéniques sont séparées grâce à leur différence de mobilité dans un champ électrique (figure 42).

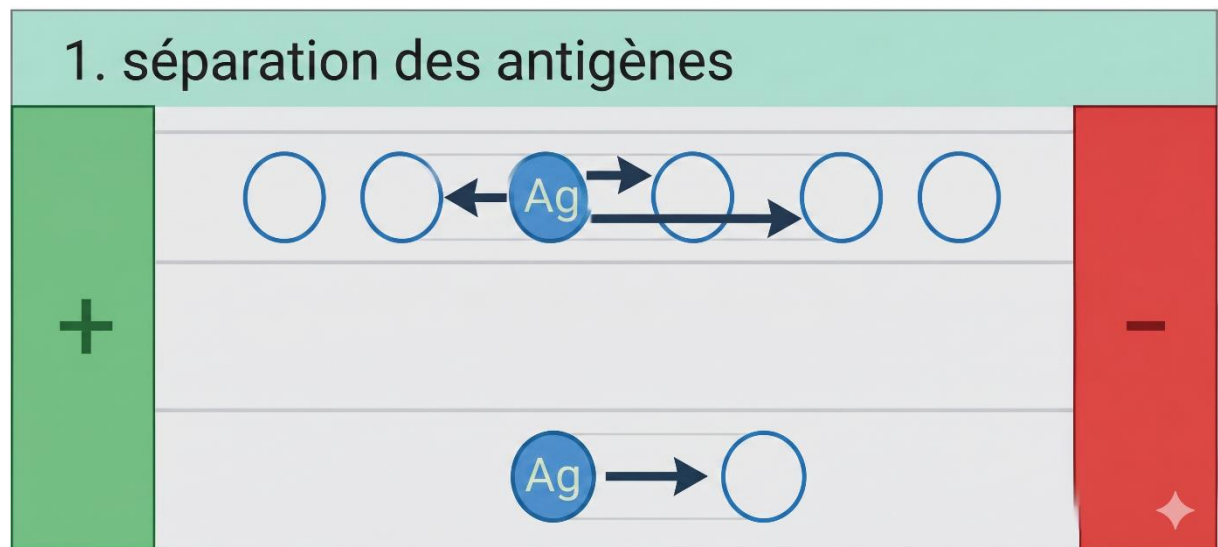


Figure 42 : Immunoélectrophorèse (séparation des antigènes)

- 2) Dans un deuxième temps, lorsque la séparation est jugée suffisante, un antisérum est placé dans une rigole parallèle au sens de migration des Ag (figure 43).
- 3) Ag et Ac diffusent librement dans le gel et donnent des arcs de précipitation. L'identification des arcs et l'interprétation des résultats reposent sur les mêmes bases que dans la technique d'Ouchterlony.

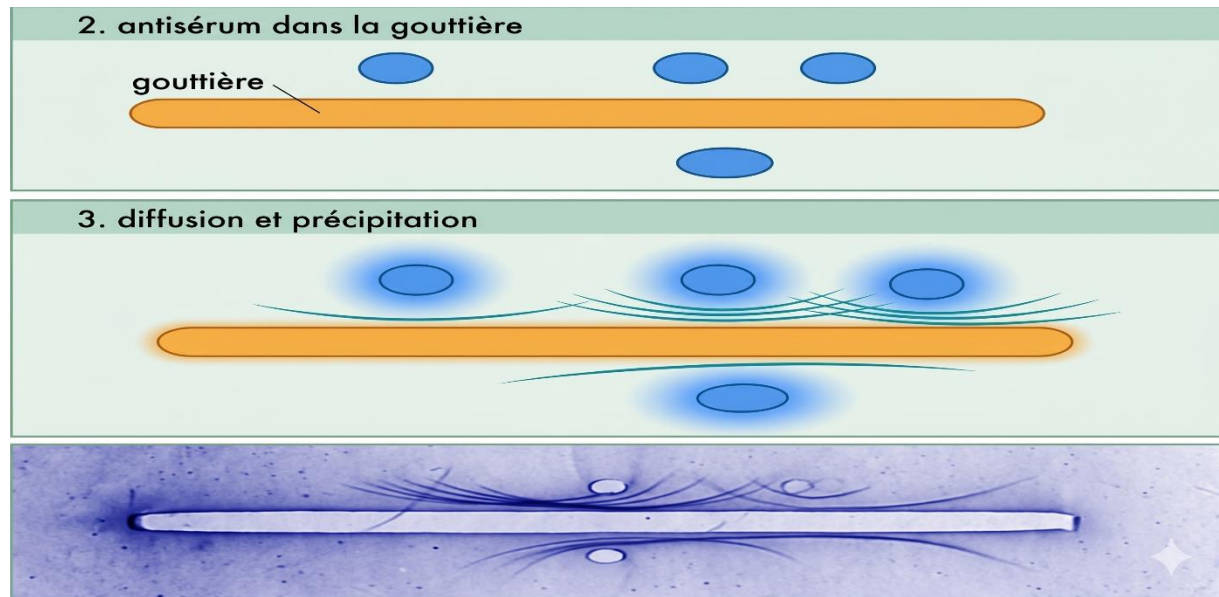


Figure 43 : les étapes d'Immunoélectrophorèse

e) Immunoélectrophorèse en fusée (Technique de Laurell) :

Électro-immunodiffusion de Laurell ou électrophorèse en fusée (rocket) est proche de la technique de Mancini, la diffusion de l'antigène est accélérée par un champ électrique. Le pH du gel est choisi de façon que les Ac soient immobiles (pI des Ig). La migration se fait dans une seule direction, et le précipité ressemble à une fusée (rocket) ou à une flamme. La hauteur du précipité est proportionnelle à la concentration de l'antigène. Des facteurs de la coagulation sont dosés par cette méthode. Le résultat est accessible en quelques heures (figure 44).

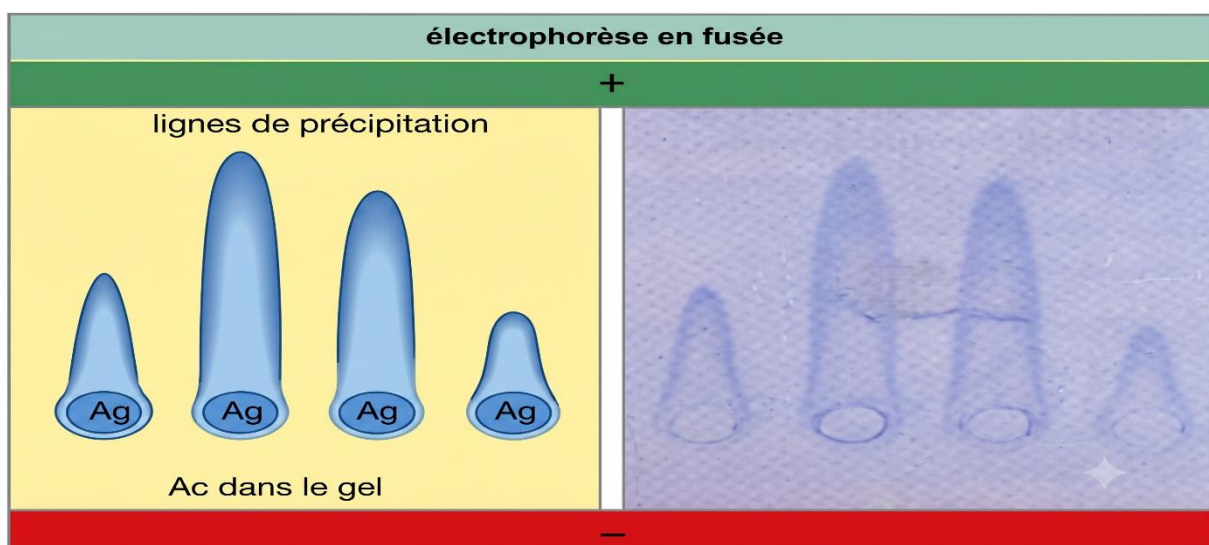


Figure 44 : Immunoélectrophorèse en fusée (Technique de Laurell)

f) Electrosynérèse ou la contre-immunoélectrophorèse :

Dans certains systèmes et en choisissant judicieusement les conditions physico-chimiques de la migration dans un champ électrique, il est possible de faire migrer l'Ag dans un sens et les Ac de l'immunsérum dans le sens opposé. Ag et Ac migrent alors rapidement à la rencontre l'un de l'autre. Au niveau des zones d'équivalence, la réaction Ag-Ac conduit à la formation d'un arc de précipitation. Cette technique a été proposée au début pour la détection de l'Ag associé à l'hépatite B (Ag HBs) ou celle des Ac correspondants (figure 50).

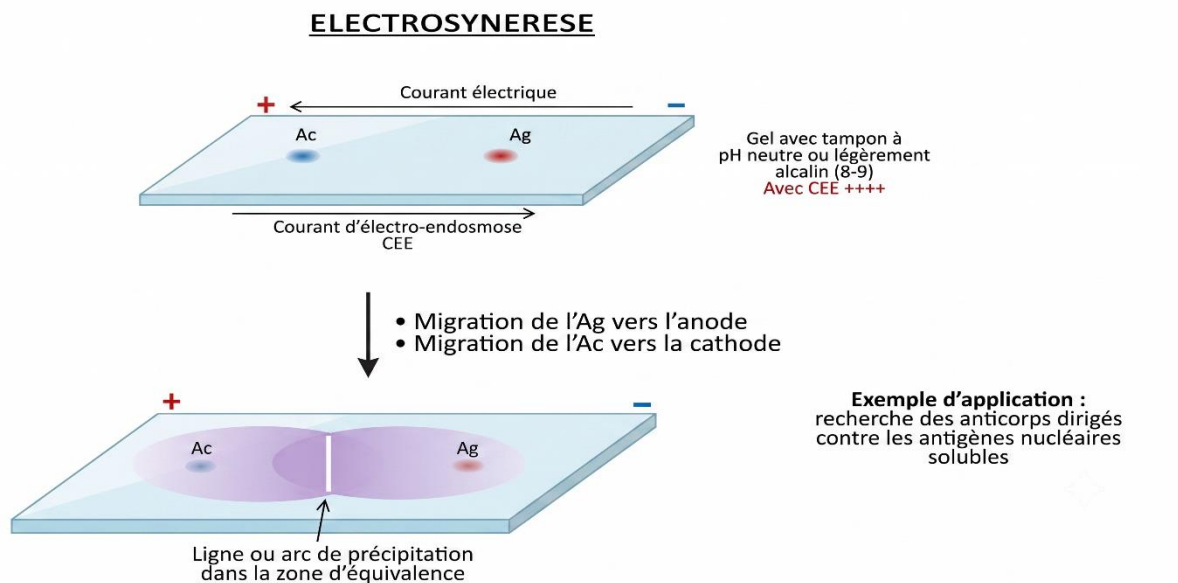


Figure 45 : L'électrosynérèse

g) Immunofixation :

L'immunofixation est une technique immunologique permettant de mettre en évidence et de préciser le typage d'une immunoglobuline monoclonale (myélome...), c'est une technique qui associe une électrophorèse à une immunoprécipitation in situ, suivi d'une coloration. Cette méthode est plus sensible et plus rapide que l'immunoélectrophorèse.

C'est une technique proche de l'immunoélectrophorèse qui se fait en deux temps :

- 1) **En premier temps**, un mélange antigénique est soumis, en plusieurs pistes, à une séparation électrophorétique en pH légèrement alcalin (pH=8.2) (figure 51).
- 2) **En deuxième temps**, chaque piste électrophorétique est incubée avec un immun sérum monospécifique qui précipite les fractions correspondantes. Après lavage, seules ces dernières restent dans le gel où elles sont révélées par un colorant des protéines.

Dr BOUDJOU-MECHOUCHE S.



Figure 46 : Technique d'Immunofixation

II.3. Réaction d'agglutination et d'hémagglutination :

La réaction d'agglutination : La réaction d'agglutination est une réaction immunologique au cours de laquelle des anticorps se lient à des antigènes particuliers (cellules, bactéries ou particules artificielles), provoquant leur regroupement en amas visibles appelés agglutinats.

Réaction d'hémagglutination : c'est un type particulier de réaction d'agglutination dans laquelle les anticorps se fixent sur des antigènes présents à la surface des globules rouges, entraînant leur agglutination visible. Cette réaction est utilisée en immunohématologie, notamment pour le groupage sanguin et la détection de certains anticorps ou antigènes.

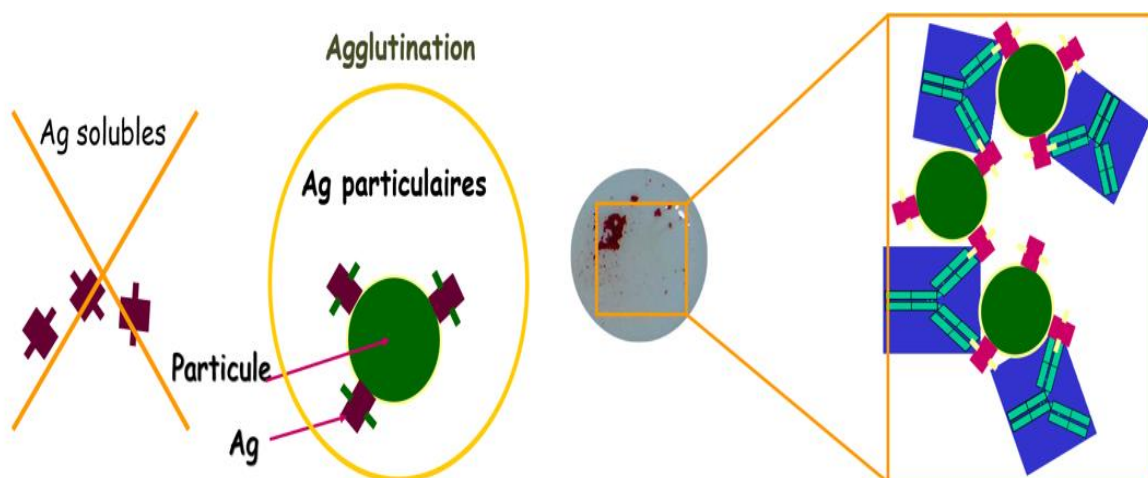


Figure 47 : Réaction d'agglutination

II.3.1. Les différents types d'agglutination : La réaction d'agglutination peut se présenter sous plusieurs formes selon la nature des antigènes, des anticorps et du support utilisé. Les principaux types d'agglutination sont décrits ci-dessous.

Tableau IV : Les types de réaction d'agglutination

	ACTIVE		PASSIVE
	Directe	Indirecte	
Définition	C'est une agglutination bien visible à l'œil nu lorsque les Ac et les Ag forment un amas.	C'est une agglutination artificielle résultante d'une faible quantité d'Ac et d'Ag.	C'est la fixation d'un Ac soluble sur une surface inerte indépendante de la réaction Ac-Ag. C'est-à-dire la particule ne possède pas naturellement l'Ag donc on l'introduit manuellement.
Caractéristiques principales	• Utilise des Ag naturellement particuliers (bactéries, hématies, levures...). • La réaction est rapide et visible à l'œil nu.	• Permet de détecter de faibles quantités d'Ag ou d'Ac. • Utilise un Ag particulaire et un Ac non agglutinant.	• La particule support est rendue antigénique par fixation artificielle d'un Ag ou d'un Ac. • L'agglutination des particules sur lesquelles l'Ag est fixé détermine la présence de l'Ac.
Utilisation / Exemple	• Groupage sanguin ABO (hématies + antisérums). • Identification de bactéries (agglutination sur lame).	• Détection d'anticorps sériques (ex : anticorps anti-streptolysine O). • Détection de certains Ag difficilement détectables par agglutination directe.	• Recherche d'anticorps spécifiques par agglutination de particules sensibilisées (latex, hématies, billes...). • Tests de diagnostic rapides (ex : tests sur latex).

II.3.1.1. Agglutination active directe :

Résulte de la mise en présence d'un antigène particulaire (bactérie, globule rouge) avec un anticorps agglutinant (figure 53). Elle se fait sur lame de verre, en tubes, ou sur plaque à puits.

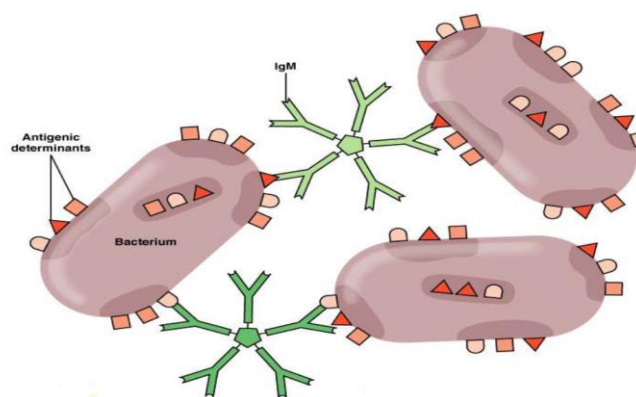


Figure 48 : Agglutination active directe

L'antigène particulaire peut être :

- Une **bactérie**, comme dans le sérotypage de *Escherichia coli* ou de *Salmonella* à l'aide d'antisérums spécifiques.
- Un **parasite**, notamment dans le cadre du sérodiagnostic de la toxoplasmose.
- Un **globule rouge**, utilisé en immunohématologie pour la détermination des groupes sanguins.

❖ Exemple d'Agglutination active directe :

- Le **Test de Coombs direct** : (test à l'anti-globulaire) : ce test étudie des hématies du patient pour rechercher la présence d'Ac spécifique et/ou de complément fixé sur les globules rouges (figure 54). Une agglutination positive témoigne que les hématies du patient ont déjà fixé des anticorps pathogènes. C'est le cas d'anémies hémolytiques auto-immunes par autoanticorps anti érythrocytes, ou les anémies hémolytiques du nouveau-né par anticorps maternels anti-Rhésus du nouveau-né par exemple.

Test de Coombs direct / Test direct à l'antiglobuline

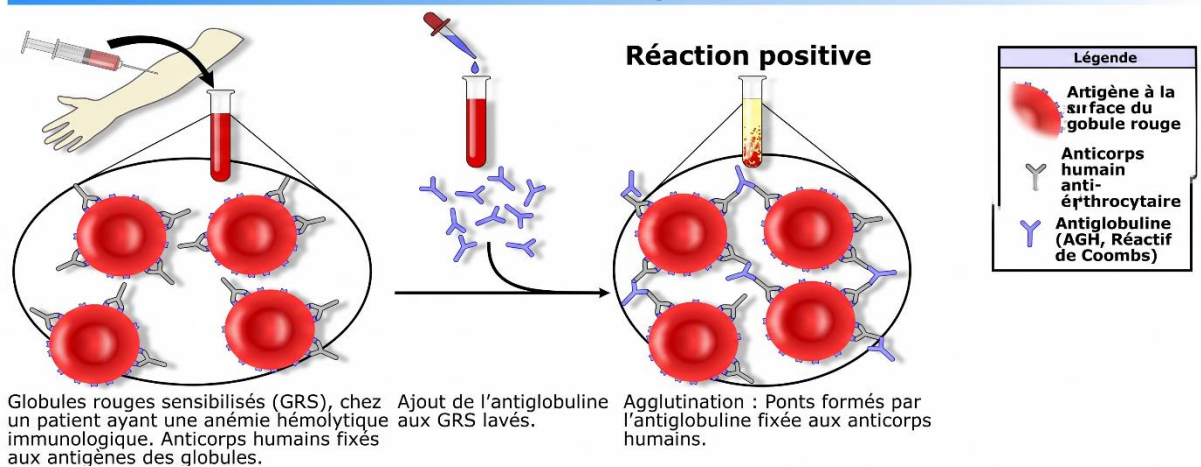


Figure 49 : Test de Coombs direct

II.3.1.2. Agglutination active indirecte (artificielle) :

Cette technique d'Agglutination active indirecte est utilisée : pour le Phénotypage Rhésus (Le Test de **Coombs indirect**). Elle résulte de la formation d'un complexe Ag particulaire et un Ac non agglutinant, On utilise alors un 2ème réactif ou artifice, pour obtenir une agglutination (figure 50), donc :

- 1) Ajout au milieu réactionnel des macromolécules qui pontent les Ac unis à des cellules voisines. Exp : la BSA, le Dextran, le Ficoll.
- 2) Hydrolyse des glycoprotéines présentes à la surface des cellules par protéases (la papaïne, la fuscine, la broméline, la trypsine...).
Leur action permet une meilleure accessibilité des Ag (mise en place de liaison hydrophobe) et une redistribution des récepteurs aux Ag.
- 3) Utilisation d'Ac anti-Ac

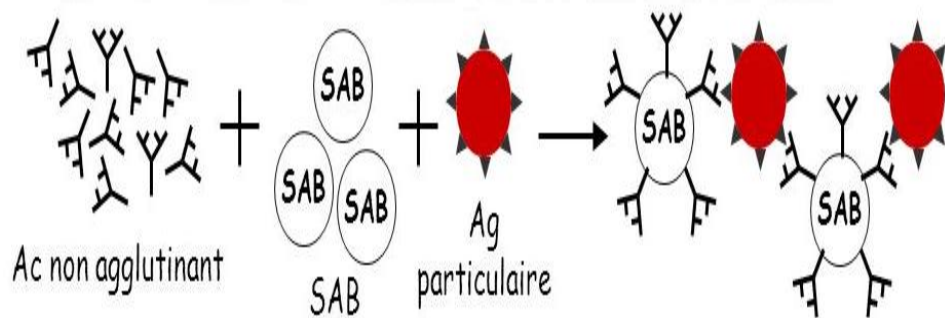


Figure 50 : Agglutination active indirecte

- ❖ **Test de Coombs indirect** : Cette technique est utilisée pour rechercher un Ac non agglutinant circulants (exemple : Ac anti-Rh). On utilise alors un Ac antiglobuline qui provoque l'agglutination (figure 51). La réaction a lieu en 2 temps :
 - 1) Les hématies Rh⁺ sont mises en présence du sérum à tester (fixation des Ac anti-Rh s'ils sont présents).
 - 2) Ajout de l'antiglobuline = anti-IgG humaine, ce qui provoque l'agglutination si le sérum contient des Ac anti-Rh.

Test de Coombs indirect / Test indirect à l'antiglobuline

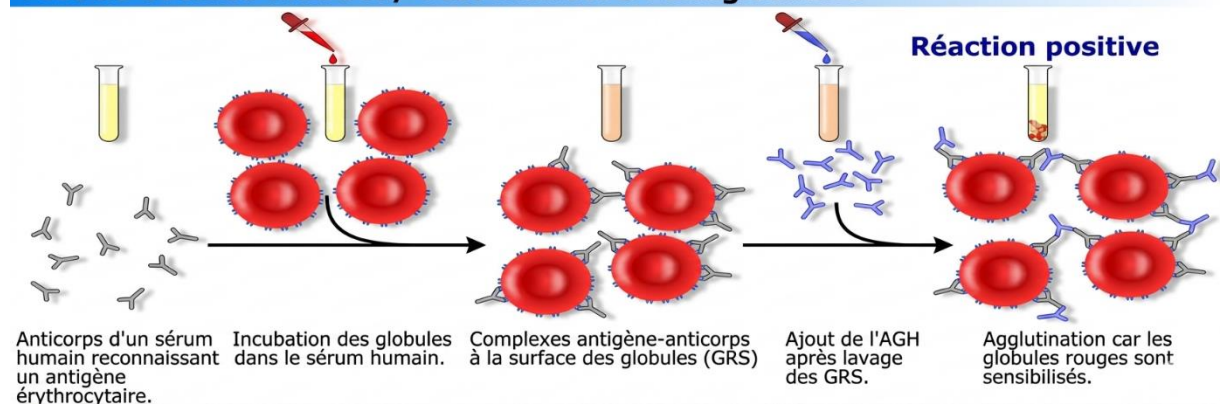


Figure 51 : Test de Coombs indirect

II.3.1.3. Agglutination passive :

Résulte de la formation d'un complexe Ag soluble mais rendu particulaire par fixation sur un support (hématies, billes de latex, cristaux de cholestérol...) et un Ac agglutinant.

a) Les billes de latex ; l'Ag est fixé par simple contact (pH 8,2)

b) Les hématies ; l'Ag est fixé par simple contact, par traitement à l'acide tannique, par fixation chimique (glutaraldéhyde, di-nitro chlorobenzène...) ou par fixation immunologique (cas des Ac dirigés contre des épitopes du GR).

- **Cette technique d'Agglutination passive est utilisée :** Test du latex et Waaler-Rose pour la recherche du facteur rhumatoïde (FR).
- ❖ **Test au latex :** Pour la recherche du facteur rhumatoïde (FR: IgM dirigées contre le fragment Fc des IgG) : tout d'abord, des IgG humaines sont fixées sur des particules de latex. Ce support est mis à réagir avec le sérum du patient. S'il contient (le sérum du patient) le FR, les particules du latex s'agglutinent sous forme d'agrégats (figure 52).

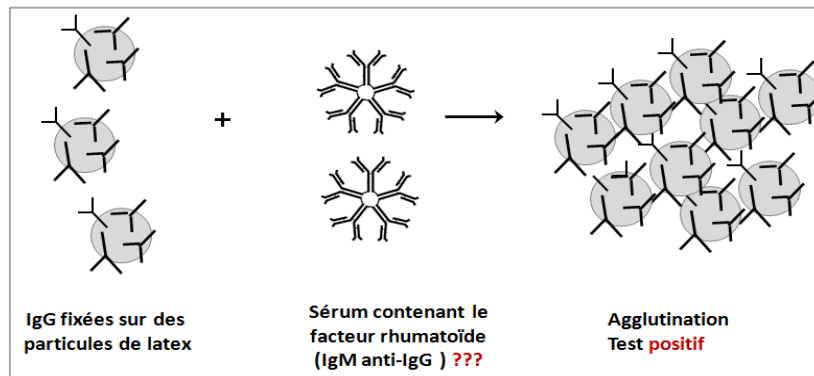


Figure 52 : Test au latex

- ❖ **Test de Waaler-Rose :** Test du Waaler-Rose pour la recherche du facteur rhumatoïde (FR) : tout d'abord des IgG de lapin sont fixées sur des hématies de mouton. Ce support est mis à réagir avec le sérum du patient. S'il contient (le sérum du patient) le FR, les hématies sensibilisées s'agglutinent sous forme d'un tapis au fond des puits des microplaques (figure 53).

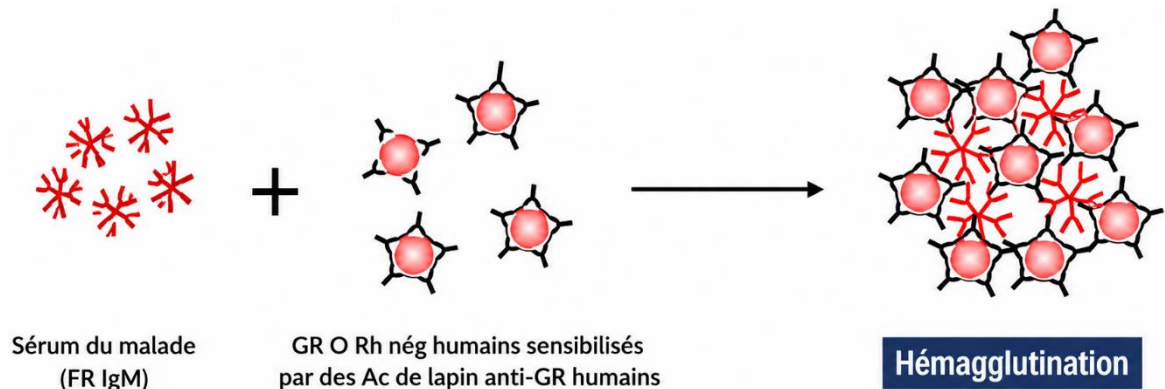


Figure 53 : Test de Waaler-Rose

1.1.1.1. Technique d'inhibition d'agglutination :

Cette technique permet de rechercher la présence d'un Ag dans un liquide biologique. Si cet Ag est présent dans le liquide biologique, il se combine aux Ac spécifiques qui ne peuvent plus alors agglutiner les hématies. Cette technique est utilisée pour le sérodiagnostic rougeole, rubéole et le diagnostic de grossesse.

❖ Test de grossesse :

Le test de grossesse consiste à rechercher la présence de l'hormone gonadotrophine chorionique humaine (hCG) dans les urines. Des globules rouges sensibilisés par l'hCG sont mis en présence d'anticorps anti-hCG et de l'urine de la femme suspectée d'être enceinte (figure 54). La présence ou l'absence d'agglutination permet alors de déterminer si l'hCG est présente dans l'échantillon urinaire. Ce principe est récapitulé dans le tableau V.

Tableau V : Le test de grossesse

CRITÈRES	TEST POSITIF	TEST NÉGATIF
Agglutination (formation de grumeaux visibles)	Oui 	Non
HGC dans l'urine (hormone gonadotrophine chorionique humaine)	Non (non détectée)	Oui (détectée)
Réaction (quantité d'antigène détectée)	Équilibre (quantité d'antigène dans la zone optimale)	Excès d'Ag (quantité d'antigène trop élevée)
Interprétation du test (Conclusion)	 NON ENCEINTE La quantité d'HCG est insuffisante pour donner une agglutination.	 ENCEINTE La quantité élevée d'HCG empêche l'agglutination (effet de prozone).

i Principe du test : Le test de grossesse par agglutination détecte l'HCG dans l'urine. Lorsque la quantité d'HCG est modérée, une agglutination se produit. Si la quantité d'HCG est trop élevée, l'agglutination ne se produit pas.

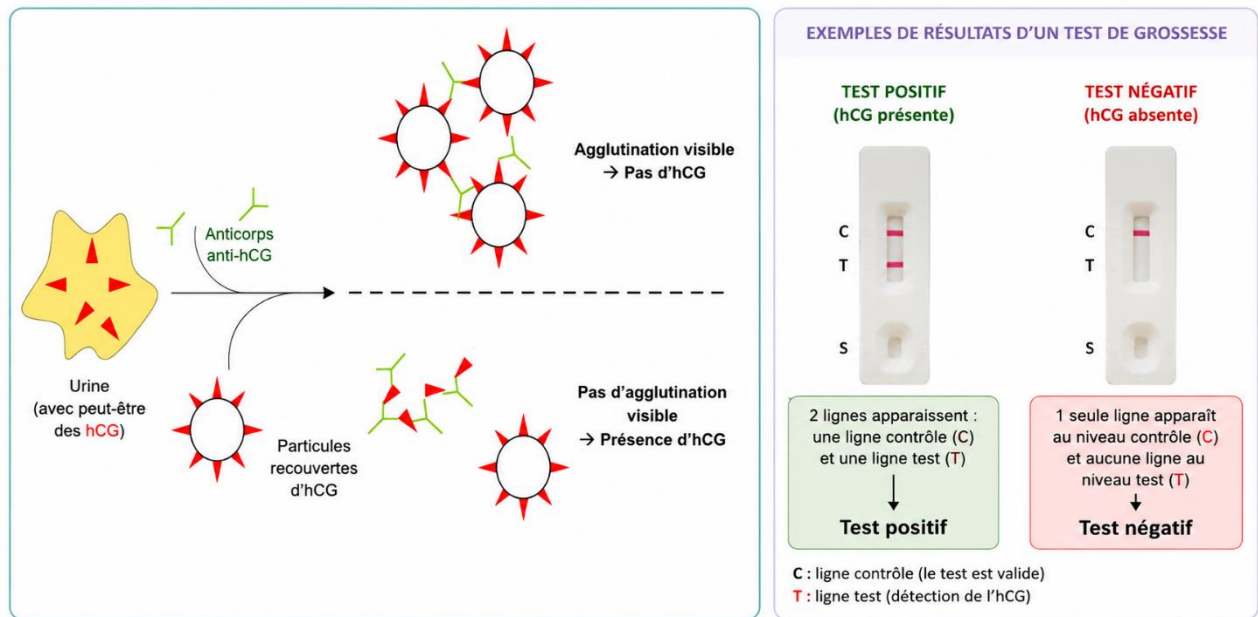


Figure 54 : Principe du test de grossesse

II.4. Réaction de neutralisation :

II.4.1. Principe des réactions de neutralisation :

Ce sont des réactions spécifiques Ag-Ac permettant de mettre en évidence un Ac en utilisant son pouvoir neutralisant sur un effet biologique visible d'un Ag. On l'utilise pour des Ag possédant des activités enzymatiques, des activités hémagglutinantes ou des activités toxiques.

➤ La réaction se déroule en 2 étapes :

- 1) **1ère étape :** Mise en contact du liquide à tester (en général un sérum dans lequel on recherche un Ac) avec l'Ag. On incube pour permettre une liaison Ag-Ac éventuelle de.
- 2) **2ème étape :** On ajoute la cible de l'Ag et on observe si son effet biologique se produit. L'absence d'effet biologique de l'Ag sur la cible traduit la présence d'Ac en quantité suffisante pour neutraliser son activité.

❖ Application : Détection et titrage d'Ac anti Streptolysine O (ASLO) :

La streptolysine O est une substance produite par les bactéries de type streptocoque (du groupe A) lorsqu'elles infectent l'organisme. La présence de streptolysine déclenche une réaction

immunitaire et la production d'anticorps antistreptolysine, qui visent à neutraliser la substance. Ces anticorps portent le nom d'antistreptolysines O (ASLO).

II.4.2. Titrage des anticorps anti-streptolysine o (aslo) par réaction de neutralisation

Le principe repose sur la recherche d'anticorps antistreptolysine (ASLO) dans le sérum du patient suspecté d'infection streptococcique. Dans ce but, on utilise comme antigène la streptolysine, protéine produite par les streptocoques b-hémolytiques (groupe A, C ou G) et capable de se fixer au cholestérol membranaire des cellules cibles (hématies, leucocytes...) pour former des pores.

1) Dans un 1er temps, on met en présence :

- ❖ Des quantités connues et croissantes de SLO réparties dans les cupules d'une barrette.
- ❖ Un volume constant du sérum à titrer (figure 55).



Figure 55 : Titrage des anticorps anti-streptolysine o (aslo)

Pendant l'incubation, si le sérum contient des Ac anti-SLO (ASLO), ils se fixent grâce à leurs paratopes sur les épitopes spécifiques de la streptolysine et neutralisent son activité : on parle de réaction de neutralisation de l'activité. Si le sérum ne contient pas d'Ac anti-SLO, la streptolysine n'est pas neutralisée.

2) Dans un second temps, pour révéler la réaction, on ajoute des globules rouges (figure 56) de lapin (cibles de la SLO). Après incubation :

- S'il y a hémolyse : la SLO est active, elle n'a donc pas été neutralisée. Le sérum ne contient pas d'ASLO.

- S'il n'y a pas d'hémolyse : la SLO a été neutralisée par les ASLO présents dans le sérum (figure 57).

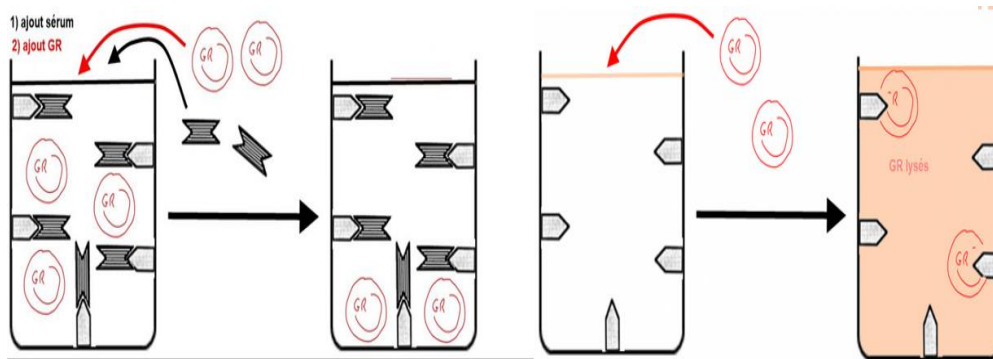


Figure 56 : le principe de la réaction de neutralisation

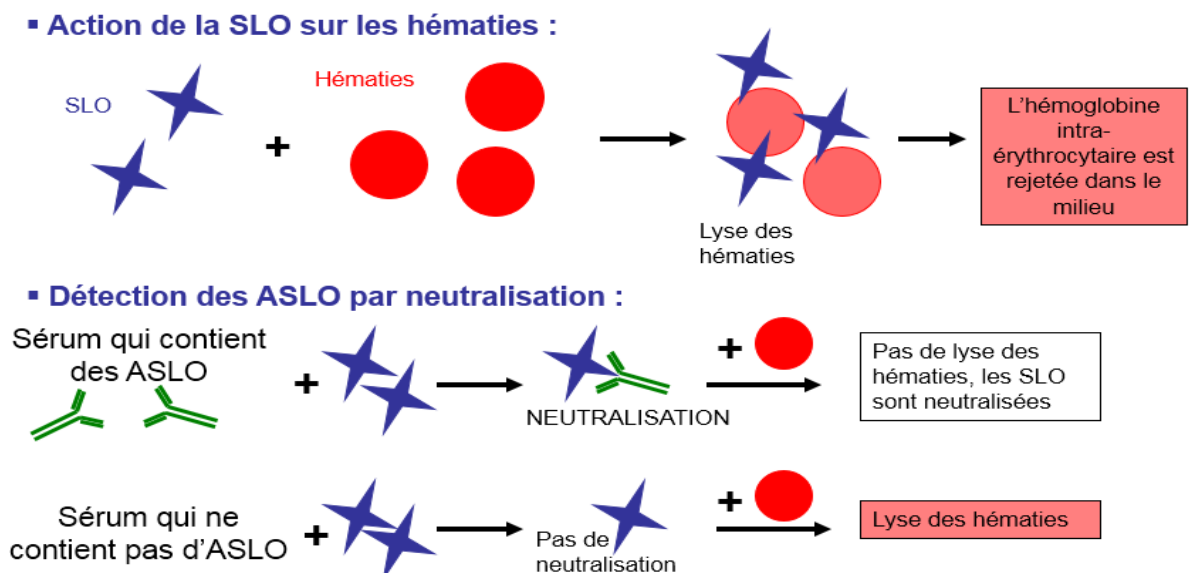


Figure 57 : Neutralisation des ASLO

II.5. Réactions de fixation du complément et hémolyse :

II.5.1. Rappels sur le système du complément

Le système du complément est un ensemble de protéines synthétisées par les hépatocytes présentes dans le plasma et la lymphe à l'état inactif. Le complément se lie au complexe Ag-Ac et ne peut pas lier l'anticorps libre. Lorsque l'Ag est complexé avec un Ac à la surface de la cellule, le complément provoque la lyse de la cellule.

Les protéines du complément sont thermolabiles et sont détruites par chauffage à 56 ° C pendant 20 à 30 min dans un processus appelé inactivation par la chaleur. L'activation des protéines du complément (C') se fait par :

- Contact avec les enveloppes des microorganismes.
- Liaison à un site particulier des Ac, démasqué lors de la formation d'un complexe immunitaire

L'activation des protéines du complément en cascade produit des composés à action :

- Cytolytique par formation du complexe d'attaque membranaire (CAM),
- Chimiotactique
- Opsonisante.

II.5.2. Cytolyse provoquée *in vitro* par le Complément (C') :

II.5.2.1. Principe :

Le complexe antigène-anticorps fixe le complément. Mais la fixation du complément avec le complexe Ag-Ac n'a aucun effet visible comme l'agglutination et la précipitation. Il est donc nécessaire d'utiliser un système d'indicateurs (Figure 58). Le système indicateur est constitué de GRM (globule rouge du mouton) recouvert d'anticorps anti-GRM. Le sérum test est inactivé par chauffage à 56 ° C pendant 30 minutes pour détruire l'activité complémentaire du sérum test et pour éliminer l'effet anti-complémentaire de certains inhibiteurs non spécifiques du sérum.

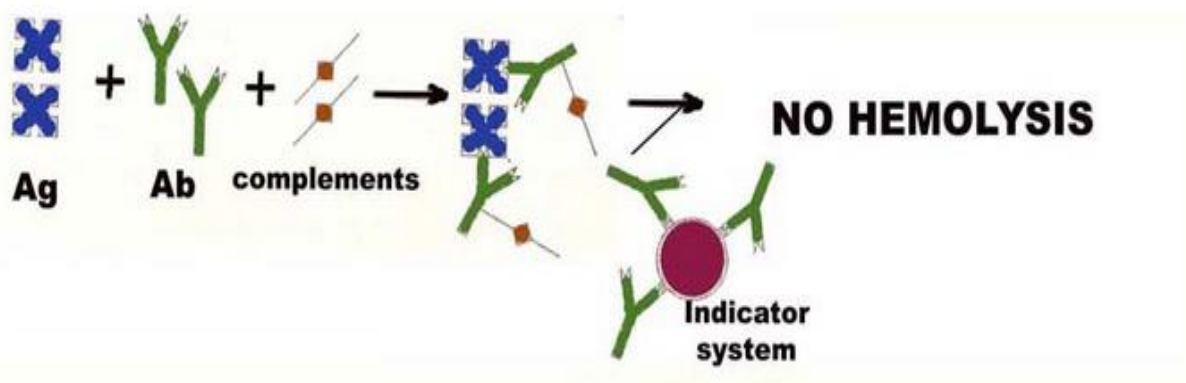


Figure 58 : Système indicateur d'hémolyse

II.5.2.2. Procédure de test de fixation du complément :

- 1) Un antigène connu (cardiolipine / Ag viral) est mélangé avec le sérum du patient inactivé
- 2) Ajouter une quantité mesurée de complément dans le test,
- 3) Le système d'essai est incubé à 37°C pendant environ 1 heure.
- 4) Après 1 heure, un système indicateur (GRM sensibilisé) est ajouté au test et à nouveau incubé à 37 °C pendant 30 minutes.
- 5) Si Ag et Ac correspondent, ils forment un complexe Ag-Ac et utilisent un complément.
- 6) Observation des résultats :
 - **Si une hémolyse est observée** : elle indique l'absence d'anticorps spécifiques (anti-virus) dans le sérum du patient, de sorte qu'aucun complément n'a été utilisé qui a lysé le GRM sensibilisé donnant l'hémolyse.
 - **Si aucune hémolyse n'est observée** : cela indique que le sérum du patient contient un anticorps qui réagit avec Ag pour former un complexe Ag-Ac puis fixe le complément. De sorte qu'aucun complément n'est disponible pour les globules rouges sensibilisés à l'hémolyse.
- 7) Interprétation des résultats :
 1. **CFT positif** : si aucune hémolyse n'est observée, cela indique un test de fixation du complément positif. La réaction antigène-anticorps et la fixation du complément se produisent, donc AUCUN complément libre n'est disponible pour lyser le GRM.
 2. **CFT négatif** : si une hémolyse des globules rouges est observée, cela indique un test de complément négatif. AUCUNE fixation du complément ne se produit, donc le complément reste libre et il hémolyse le globule rouge (Figure 59).

Complement Fixation

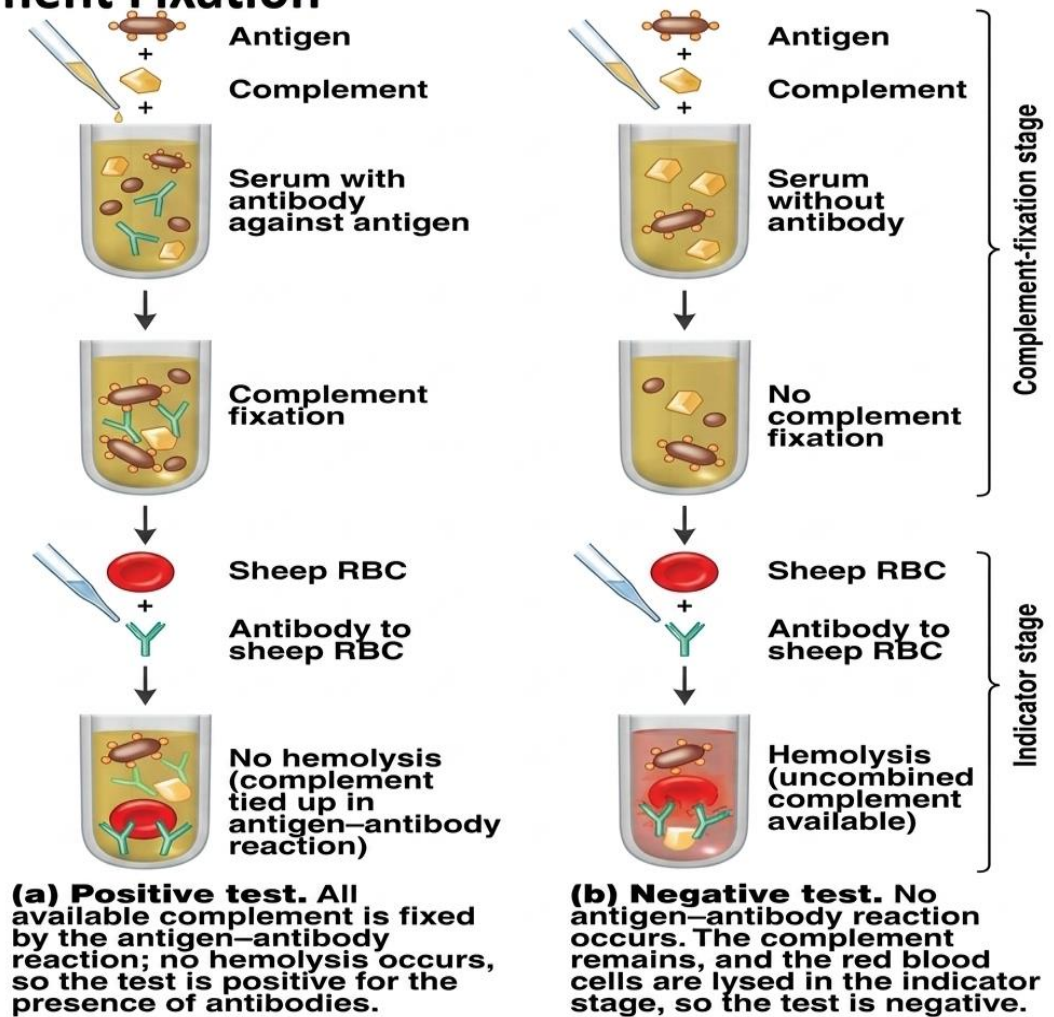


Figure 59 : Fixation du complément et l'hémolyse

II.5.2.3. Applications de CFT (test de fixation du complément) :

Le test de fixation du complément (TFC) a plusieurs applications, principalement dans le domaine du diagnostic médical. Il est utilisé pour détecter des anticorps spécifiques dans le sérum du patient, permettant ainsi de diagnostiquer une gamme d'infections virales, bactériennes et parasitaires. Voici les principales applications du TFC :

Tableau VI : Les principales applications du TFC

Domaine d'application	Maladies concernées (exemples)	Objectif du TFC
☐ Infections virales	Rougeole, oreillons, grippe, herpès, hépatites	Détection des anticorps spécifiques dirigés contre les virus.
☐ Infections bactériennes	Syphilis, tuberculose, brucellose, légionellose	Mise en évidence d'anticorps témoignant d'une infection bactérienne.
☐ Infections parasitaires	Toxoplasmose, paludisme (malaria), trypanosomiase, schistosomiase	Recherche d'anticorps spécifiques contre les parasites.
☐ Épidémiologie et santé publique	Études de prévalence, surveillance des zoonoses	Évaluation de la circulation des agents infectieux au sein d'une population et suivi des maladies transmissibles.

❖ Méthodes utilisant un marqueur : observation indirecte

II.6. Techniques Immunoenzymatique (ELISA)

II.6.1. Définition :

La technique d'immuno-enzymologie, est une technique d'analyse par réaction entre antigènes et anticorps et utilisant comme marqueur des enzymes.

II.6.2. Principe du test ELISA

L'ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) est une technique immuno-enzymatique de détection qui permet de visualiser une réaction Ag-AC grâce à une réaction colorée produite par l'action sur un substrat d'une enzyme préalablement fixée à l'anticorps.

II.6.3. Types d'ELISA

II.6.3.1. ELISA direct :

Le test ELISA direct est le plus simple des formats ELISA. Il implique l'attachement direct d'un antigène à une surface, suivi de la détection par un anticorps conjugué à une enzyme. Cette technique comporte les étapes suivantes (Figure 60) :

Etape 1 : Immobilisation de l'antigène :

Une plaque de microtitration (généralement une plaque de 96 puits) est recouverte de l'antigène à détecter. Les puits de la plaque sont recouverts d'une solution contenant l'antigène, qui adhère à la surface par des interactions hydrophobes ou électrostatiques.

Etape 2 : Ajout de l'anticorps conjugué à l'enzyme :

Un anticorps spécifique à l'antigène est ajouté. Cet anticorps est conjugué à une enzyme (par exemple, la peroxydase de raifort (HRP) ou la phosphatase alcaline (AP)). L'anticorps se lie spécifiquement à l'antigène immobilisé.

Etape 3 : Lavage, ajout du substrat et mesure :

Les puits sont lavés pour éliminer les anticorps non liés, réduisant ainsi le bruit de fond. Un substrat spécifique de l'enzyme est ajouté. L'enzyme catalyse une réaction qui produit un signal mesurable, généralement un changement de couleur. La quantité de signal produit est proportionnelle à la quantité d'antigène présent dans l'échantillon. Le signal est mesuré à l'aide d'un lecteur de plaque à une longueur d'onde spécifique.

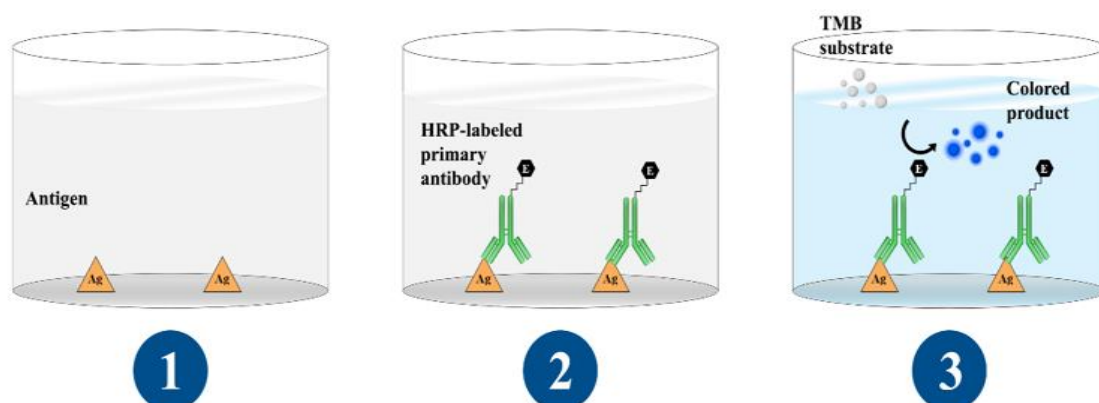


Figure 60 : Les étapes d'ELISA direct

II.6.3.2. ELISA indirecte :

L'ELISA indirect repose sur la détection d'anticorps spécifiques dans un échantillon, en utilisant un anticorps secondaire conjugué à une enzyme pour amplifier le signal. Ce type d'Elisa est réalisé selon les étapes ci-dessous (Figure 61) :

Etape 1 : Fixation de l'antigène :

L'antigène connu, spécifique à l'anticorps recherché, est incubé sur une plaque de microtitration. L'antigène va se fixer de manière électrostatique au fond des puits.

Etape 2 : Fixation de l'anticorps à doser (anticorps primaire) :

L'échantillon (par exemple, du sérum ou du plasma) contenant les anticorps spécifiques à l'antigène est ajouté aux puits. Les anticorps spécifiques se lient à l'antigène immobilisé.

Etape 3 : Fixation de l'anticorps de détection (l'anticorps secondaire conjugué à l'enzyme) :

Les puits sont lavés pour éliminer les anticorps non liés, réduisant ainsi le bruit de fond. Un anticorps secondaire, qui reconnaît et se lie spécifiquement à l'anticorps primaire, est ajouté. Cet anticorps secondaire est conjugué à une enzyme (par exemple, la peroxydase de raifort (HRP) ou la phosphatase alcaline (AP)).

Etape 4 : Ajout du substrat (Révélation) :

Les puits sont de nouveau lavés pour éliminer les anticorps secondaires non liés. Un substrat spécifique de l'enzyme est ajouté. L'enzyme catalyse une réaction qui produit un signal mesurable, généralement un changement de couleur. La quantité de signal produit est proportionnelle à la quantité d'anticorps primaires présents dans l'échantillon. Le signal est mesuré à l'aide d'un lecteur de plaque à une longueur d'onde spécifique.

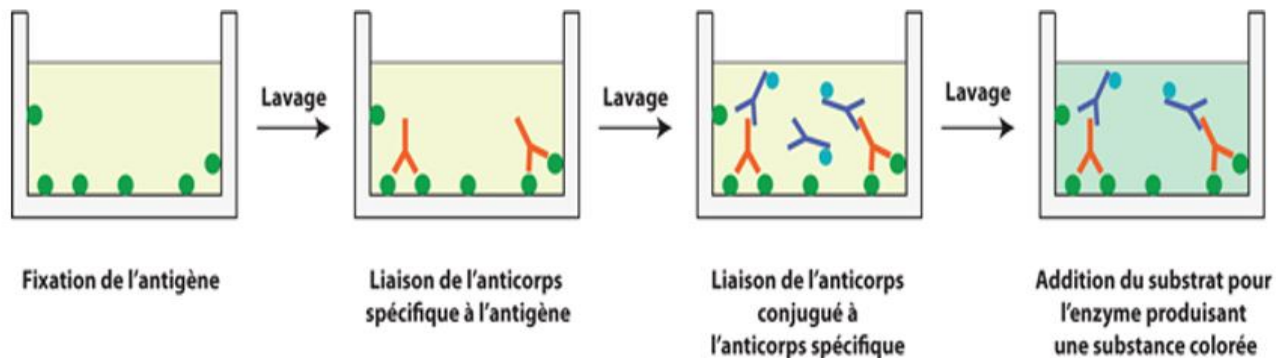


Figure 61 : ELISA indirect

II.6.3.3. ELISA Sandwich :

L'ELISA Sandwich est une technique de dosage immuno-enzymatique utilisée pour détecter et quantifier des antigènes présents dans un échantillon. Cette méthode est appelée "sandwich" car l'antigène cible est "pris en sandwich" entre deux anticorps (figure 62) : un anticorps de capture et un anticorps de détection. Le principe repose sur l'utilisation de deux anticorps spécifiques de l'antigène cible. Le premier anticorps (anticorps de capture) est immobilisé sur une plaque, et le second anticorps (anticorps de détection), qui est conjugué à une enzyme, permet la détection de l'antigène. Les étapes de cette technique sont comme suit :

Etape 1 : Immobilisation de l'anticorps de capture :

Une plaque de microtitration (généralement une plaque de 96 puits) est recouverte d'un anticorps spécifique à l'antigène cible. Les puits de la plaque sont recouverts d'une solution contenant l'anticorps de capture, qui adhère à la surface par des interactions hydrophobes ou électrostatiques.

Etape 2 : Ajout de l'échantillon contenant l'antigène :

L'échantillon (par exemple, du sérum, du plasma ou un autre fluide biologique) contenant l'antigène cible est ajouté aux puits. L'antigène se lie spécifiquement à l'anticorps de capture immobilisé.

Etape 3 : Ajout de l'anticorps de détection :

Les puits sont lavés pour éliminer les composants non liés de l'échantillon, réduisant ainsi le bruit de fond. Un anticorps secondaire, également spécifique de l'antigène, est ajouté. Cet anticorps de détection est conjugué à une enzyme (par exemple, la peroxydase de raifort (HRP)

Dr BOUDJOU-MECHOUCHE S.

ou la phosphatase alcaline (AP)). L'anticorps de détection se lie spécifiquement à l'antigène capturé, formant ainsi le "sandwich".

Etape 4 : Ajout du substrat : Les puits sont de nouveau lavés pour éliminer les anticorps de détection non liés. Un substrat spécifique de l'enzyme est ajouté. L'enzyme catalyse une réaction qui produit un signal mesurable, un changement de couleur. La quantité de signal produit est proportionnelle à la quantité d'antigène présent dans l'échantillon. Le signal est mesuré à l'aide d'un lecteur de plaque à une longueur d'onde spécifique.

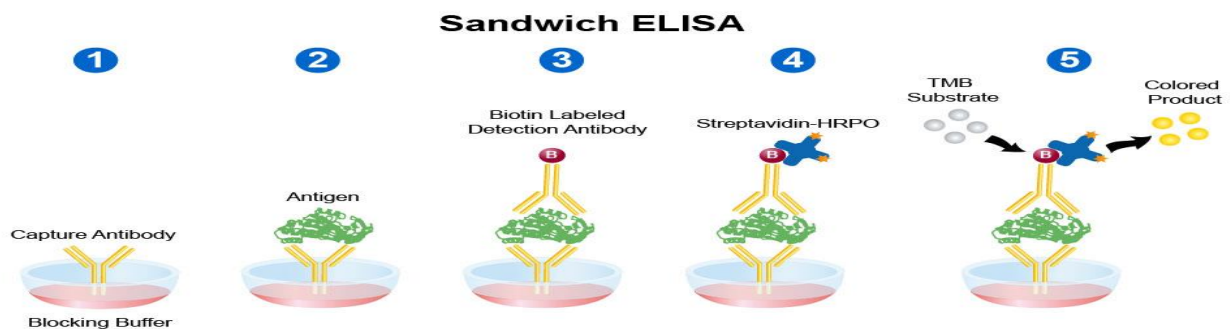


Figure 62 : ELISA sandwich

II.6.3.4. L'ELISA compétitive

L'ELISA compétitif est une technique immuno-enzymatique de dosage reposant sur une compétition entre l'antigène (ou l'anticorps) présent dans l'échantillon et une quantité connue d'antigène (ou d'anticorps) marqué par une enzyme pour se fixer sur un site de liaison spécifique. L'intensité du signal obtenu est inversement proportionnelle à la concentration de l'analyte présent dans l'échantillon (figure 63).

Étapes :

1. Immobilisation de l'anticorps ou de l'antigène :

- Une plaque de microtitration (généralement une plaque de 96 puits) est recouverte d'un anticorps spécifique ou d'un antigène cible. Les puits de la plaque sont recouverts d'une solution contenant l'anticorps ou l'antigène, qui adhère à la surface par des interactions hydrophobes ou électrostatiques.

2. Blocage :

- Les sites non spécifiques de la plaque sont bloqués avec une solution bloquante (par exemple, du lait en poudre ou du sérum d'albumine bovine) pour éviter la liaison non spécifique des réactifs.

3. Ajout de l'échantillon et de l'antigène ou de l'anticorps marqué :

- L'échantillon contenant l'antigène ou l'anticorps cible est ajouté aux puits, en même temps qu'une quantité connue d'antigène ou d'anticorps marqué par une enzyme. Les deux compétissent pour la liaison aux sites spécifiques sur l'anticorps ou l'antigène immobilisé.

4. Lavage :

- Les puits sont lavés pour éliminer les antigènes ou anticorps non liés, réduisant ainsi le bruit de fond.

5. Ajout du substrat :

- Un substrat spécifique de l'enzyme est ajouté. L'enzyme catalyse une réaction qui produit un signal mesurable, généralement un changement de couleur.

6. Mesure :

- La quantité de signal produit est inversement proportionnelle à la concentration d'antigène ou d'anticorps dans l'échantillon. Plus il y a d'antigène ou d'anticorps dans l'échantillon, moins il y a d'antigène ou d'anticorps marqué lié, et donc moins le signal est fort. Le signal est mesuré à l'aide d'un lecteur de plaque à une longueur d'onde spécifique.

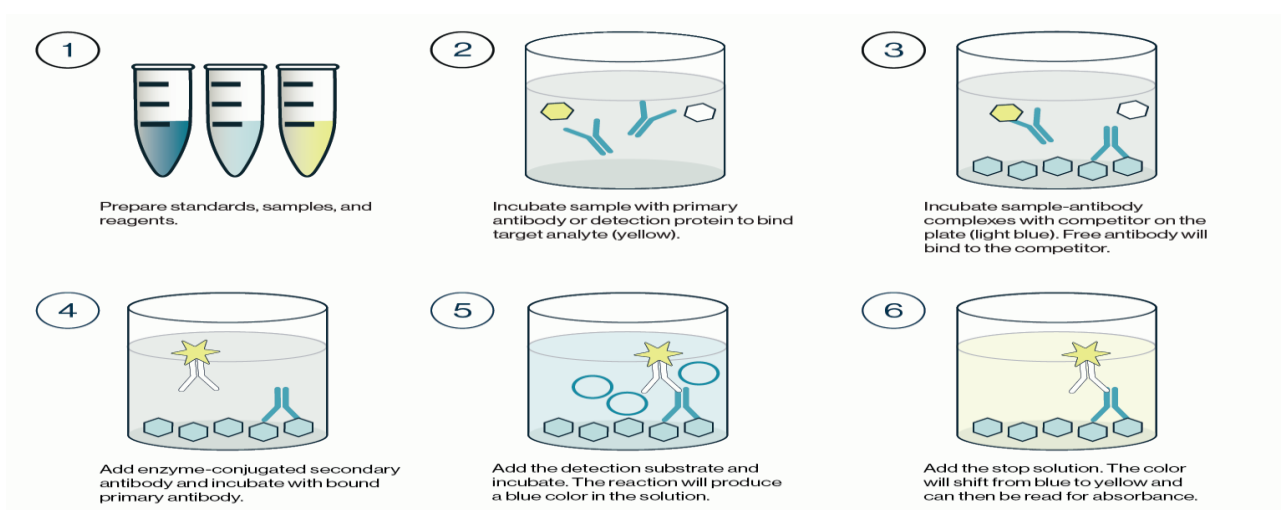


Figure 63 : ELISA compétitive

Dr BOUDJOU-MECHOUCHE S.

II.6.4. Application de la technique d'Elisa

La technique ELISA est polyvalente et ses applications sont vastes, couvrant les domaines de la recherche biomédicale, du diagnostic clinique, de la pharmacologie, de la sécurité alimentaire et même de l'environnement (tableau VII).

Tableau VII : Applications principales de la technique ELISA

Domaine d'application	Applications principales
Diagnostic médical	Détection des maladies infectieuses (VIH, hépatites, COVID-19, syphilis), diagnostic des allergies et dosage de biomarqueurs de maladies.
Recherche biomédicale	Quantification des cytokines et protéines immunitaires, étude des biomarqueurs et évaluation de la réponse vaccinale.
Pharmacologie et contrôle qualité	Contrôle des médicaments biologiques, suivi thérapeutique et détection de marqueurs de toxicité.
Industrie alimentaire	Détection des allergènes alimentaires, contrôle des contaminations microbiennes et vérification de l'authenticité des produits.
Environnement	Détection des contaminants (pesticides, mycotoxines, métaux lourds) et surveillance de la pollution biologique des eaux et des sols.

II.7. Technique d'immunofluorescence

La technique d'immunofluorescence est une méthode de laboratoire qui utilise des anticorps marqués avec des molécules fluorescentes pour détecter la présence et la localisation d'antigènes spécifiques dans des échantillons biologiques. Cette technique est particulièrement utilisée en recherche biomédicale et en diagnostic clinique pour étudier les cellules, les tissus, et divers agents pathogènes. Elle est basée sur la liaison spécifique entre un anticorps et son antigène cible, ce qui permet de visualiser des structures microscopiques avec une grande précision.

Dr BOUDJOU-MECHOUCHE S.

II.7.1. Principe de la technique d'immunofluorescence

L'immunofluorescence repose sur la capacité d'un anticorps marqué avec un fluorochrome (un colorant fluorescent) à se lier spécifiquement à un antigène. Lorsqu'ils sont exposés à une lumière d'excitation d'une longueur d'onde spécifique, ces fluorochromes émettent une lumière visible, permettant ainsi de détecter l'emplacement de l'antigène dans l'échantillon (figure 64).

La lecture s'effectue à l'aide d'un microscope à fluorescence. Cette technique utilise plusieurs types de molécules fluorescentes : Fluorescéine isothiocyanate ou Rhodamine.

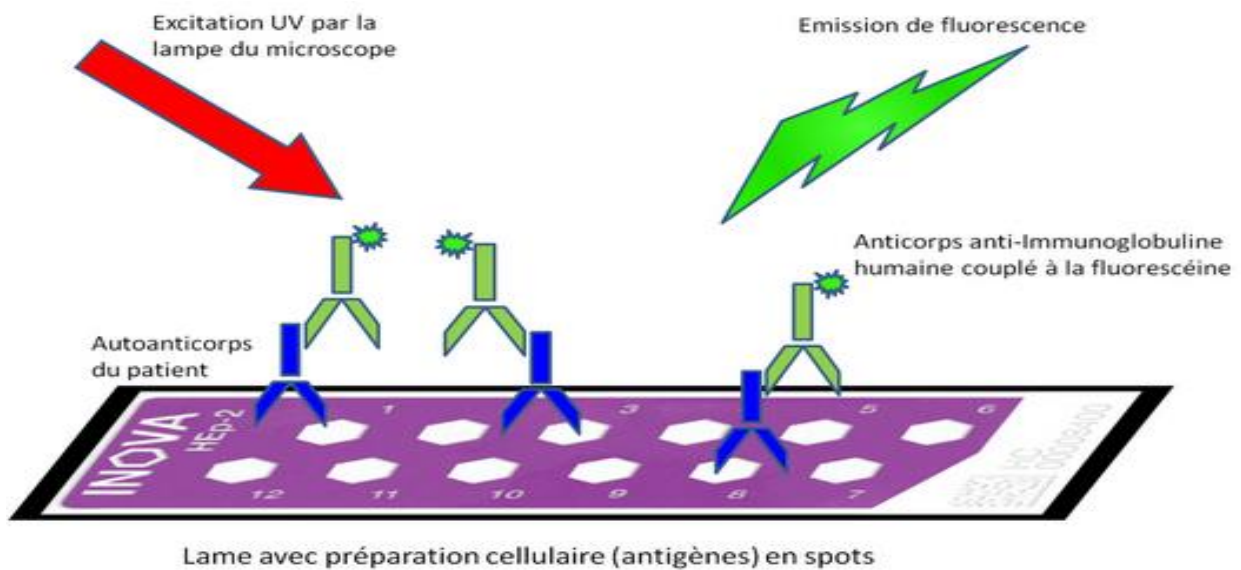


Figure 64 : Principe de l'immunofluorescence

II.7.2. Types de techniques d'immunofluorescence

II.7.2.1. Immunofluorescence directe

L'immunofluorescence directe est une technique de laboratoire utilisée pour détecter la présence d'antigènes spécifiques dans des cellules ou des tissus. Elle repose sur l'utilisation d'anticorps marqués par un fluorochrome (une molécule fluorescente) qui se fixe directement sur la cible (l'antigène) dans l'échantillon.

➤ **Etapes de l'immunofluorescence directe :**

1. **Préparation de l'échantillon :** Les cellules ou tissus sont fixés et placés sur une lame de microscope.
2. **Ajout de l'anticorps fluorescent :** On applique un anticorps spécifique à l'antigène que l'on souhaite détecter. Cet anticorps est directement conjugué à un fluorochrome (comme la fluorescéine ou la rhodamine).
3. **Fixation de l'anticorps sur l'antigène :** L'anticorps se lie à l'antigène s'il est présent dans l'échantillon.
4. **Observation au microscope à fluorescence :** L'échantillon est observé sous un microscope à fluorescence qui excite les fluorochromes, rendant les complexes antigène-anticorps fluorescents visibles.

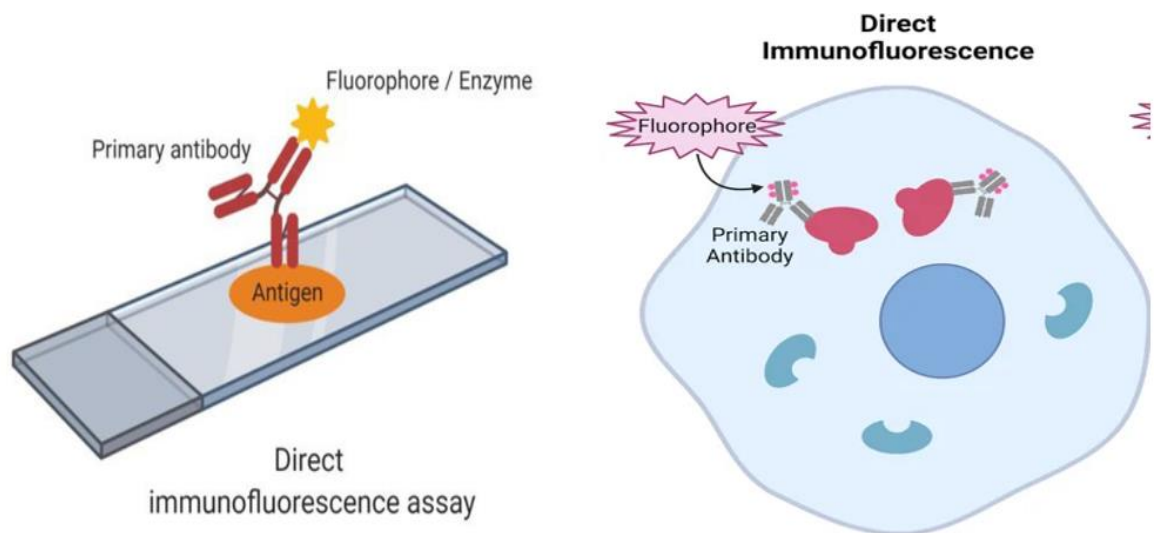


Figure 65 : Principe de l'immunofluorescence direct

II.7.2.2. L'immunofluorescence indirecte (IFI)

L'immunofluorescence indirecte est une autre technique de détection d'antigènes dans des échantillons biologiques, similaire à l'immunofluorescence directe, mais avec une étape supplémentaire qui améliore la sensibilité. Plutôt que d'utiliser un anticorps primaire marqué directement avec un fluorochrome, cette technique utilise un anticorps secondaire fluorescent qui se lie à un anticorps primaire spécifique de l'antigène (figure 66).

➤ **Etapes de l'immunofluorescence indirecte**

1. **Préparation de l'échantillon** : Les cellules ou les tissus sont préparés, fixés, et placés sur une lame de microscope.
2. **Ajout de l'anticorps primaire** : Un anticorps spécifique à l'antigène cible est appliqué sur l'échantillon. Cet anticorps primaire n'est pas marqué.
3. **Ajout de l'anticorps secondaire fluorescent** : Après un rinçage pour éliminer l'excès d'anticorps primaires, on ajoute un anticorps secondaire marqué avec un fluorochrome. Cet anticorps secondaire reconnaît et se lie spécifiquement à l'anticorps primaire.
4. **Observation au microscope à fluorescence** : Comme dans l'immunofluorescence directe, l'échantillon est observé sous un microscope à fluorescence, et le fluorochrome de l'anticorps secondaire est excité pour révéler l'emplacement de l'antigène cible.

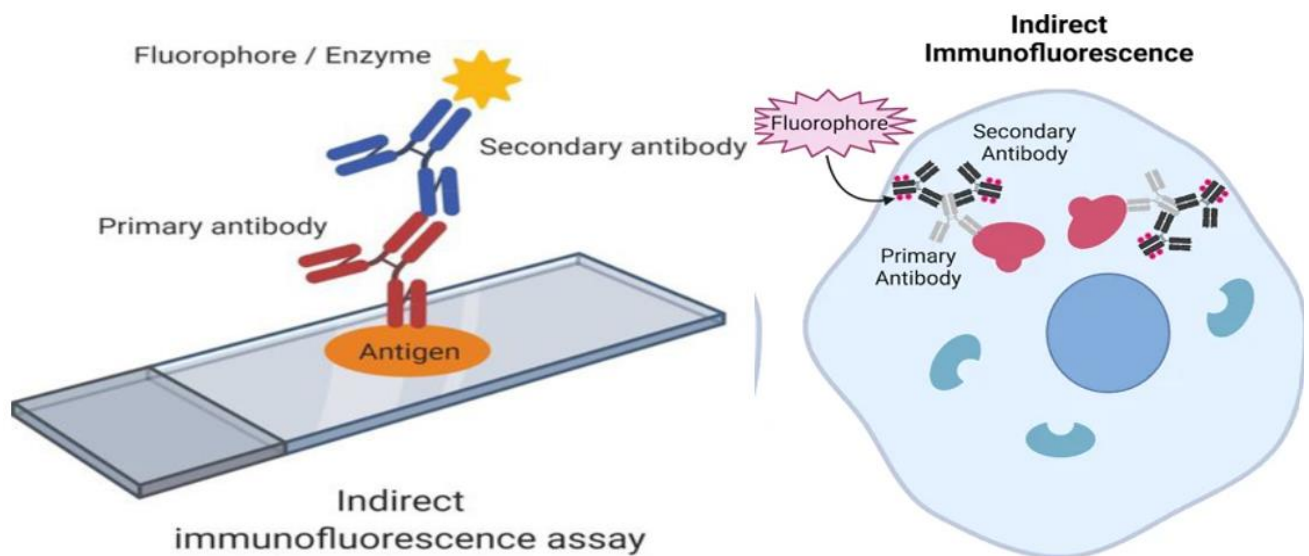


Figure 66 : Principe de l'immunofluorescence indirect

II.7.3. Applications de l'immunofluorescence : Grâce à sa grande spécificité et à la visualisation directe des structures biologiques au microscope à fluorescence, elle est largement utilisée en diagnostic médical, en recherche biomédicale et en biologie cellulaire. Le tableau suivant présente les principales applications de cette technique. Les principales applications de l'immunofluorescence sont résumées dans le tableau VIII.

Tableau VIII : Applications de l'immunofluorescence

Domaine d'application	Description
Diagnostic médical	Utilisée pour détecter des pathogènes (virus, bactéries) ou des marqueurs de maladies auto-immunes dans les échantillons biologiques et les tissus.
Recherche en biologie cellulaire	Permet de localiser des protéines spécifiques dans les cellules, contribuant à l'étude de leurs fonctions, de leur distribution et de leurs interactions.
Histopathologie	Employée pour l'analyse des tissus afin d'identifier des marqueurs associés aux cancers et à diverses pathologies.
Virologie et microbiologie	Utilisée pour la détection et l'identification d'infections virales ou bactériennes spécifiques.

II.8. Techniques de dosages radio-immunologique :

Les dosages radio-immunologiques sont des techniques qui permettent de mesurer des concentrations extrêmement faibles de substances dans le sang, comme les hormones, les antigènes, ou les médicaments, grâce à l'utilisation d'isotopes radioactifs. Cette technique repose sur le marquage de l'antigène (Ag) ou de l'anticorps (Ac) à l'aide d'un isotope radioactif, tel que l'iode 125 (^{125}I), le tritium (^3H) ou le carbone 14 (^{14}C), suivie d'une mesure de la radioactivité du complexe formé à l'aide d'un compteur de radioactivité, exemple : compteur β ($\text{H}^3 \dots$), compteur γ ($\text{I}^{125} \dots$).

II.8.1. Les types de radio-dosage immunologique :

II.8.1.1. Radio-immunodosage par compétition / RIA (Radio Immuno Assay) :

Le RIA repose sur une réaction de compétition entre un antigène marqué radioactivement et l'antigène présent dans l'échantillon, tous deux en compétition pour se lier à un anticorps spécifique (figure 67).

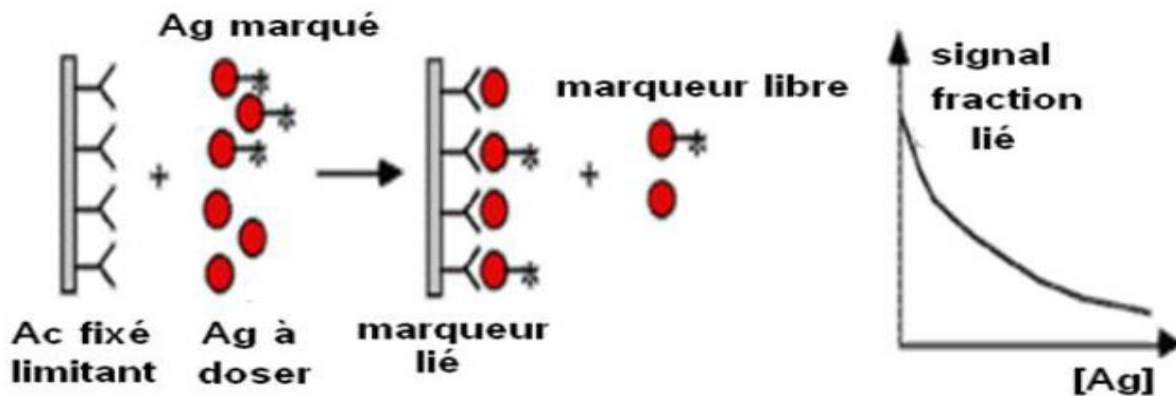


Figure 67 : Le principe de la Radio-Immunoassay (RIA)

➤ **Étapes de la Radio-Immunoassay (RIA) par compétition**

1. **Préparation de l'antigène marqué** : Un antigène spécifique est couplé avec un isotope radioactif (comme l'iode-125).
2. **Compétition entre antigènes** : On ajoute dans le tube de réaction un anticorps spécifique de cet antigène. L'antigène radioactif (marqué) et l'antigène de l'échantillon (non marqué) entrent en compétition pour se lier aux sites disponibles sur l'anticorps.
3. **Formation de complexes antigène-anticorps** : Plus la concentration d'antigène non marqué (de l'échantillon) est élevée, moins l'antigène marqué pourra se lier à l'anticorps, et vice versa.
4. **Séparation et mesure de la radioactivité** : Une fois que les complexes antigène-anticorps sont formés, il faut séparer les complexes liés du reste des antigènes libres. On mesure ensuite la radioactivité de la fraction liée, qui est inversement proportionnelle à la quantité d'antigène non marqué (cible) présente dans l'échantillon.

II.8.1.2. Dosage Radio Immuno métrique / IRMA : Immuno Radio Metric Assay

Contrairement au radio-immunodosage par compétition (RIA), l'IRMA utilise un anticorps radiomarqué pour se lier directement à l'antigène cible, offrant une sensibilité accrue et une meilleure spécificité (figure 68).

➤ **Etapes de l'Immuno Radio Metric Assay (IRMA)**

1. **Capture de l'antigène par un premier anticorps** : Dans le test IRMA, l'échantillon est d'abord incubé avec un anticorps de capture spécifique, fixé sur une surface solide (comme un tube ou une bille).
2. **Ajout d'un anticorps radiomarqué** : Après la fixation de l'antigène cible sur l'anticorps de capture, un deuxième anticorps marqué avec un isotope radioactif (par exemple, l'iode-125) est ajouté. Cet anticorps se lie à un autre épitope de l'antigène, formant un « sandwich » autour de l'antigène.
3. **Mesure de la radioactivité** : Après la formation du complexe sandwich, on élimine les anticorps marqués non liés. La radioactivité mesurée est directement proportionnelle à la quantité d'antigène dans l'échantillon.

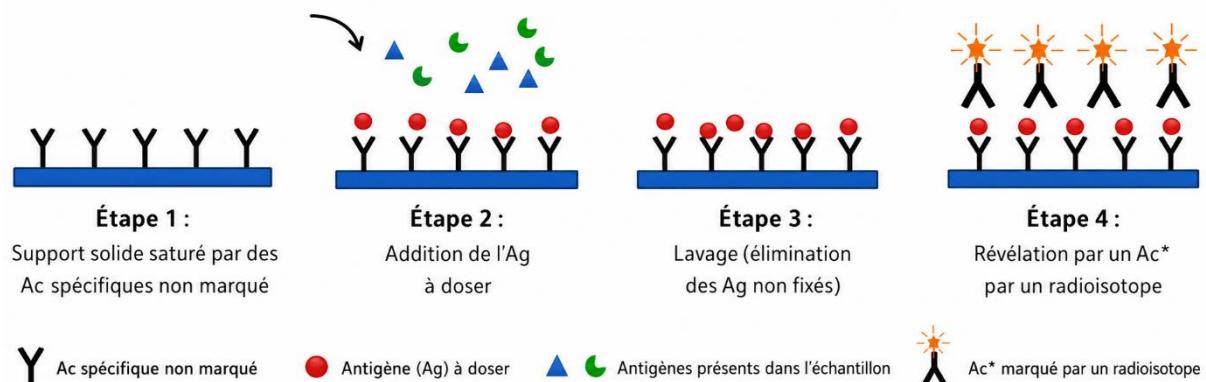


Figure 68 : Principe de l'Immuno Radio Metric Assay (IRMA)

❖ **Différences entre IRMA et RIA**

- **Sensibilité accrue** : L'IRMA est souvent plus sensible que le RIA car il n'y a pas de compétition entre l'antigène marqué et l'antigène non marqué. Cela permet de détecter des concentrations plus faibles de la molécule cible.
- **Proportionnalité directe** : Contrairement au RIA (où la radioactivité est inversement proportionnelle à la concentration d'antigène), dans l'IRMA, la radioactivité mesurée est directement proportionnelle à la concentration d'antigène.

II.8.2. Les applications de radio-dosage immunologique

Ces techniques ont diverses applications dans plusieurs domaines médicaux et biologiques, grâce à leur haute sensibilité et précision pour mesurer de faibles concentrations de molécules spécifiques. Voici quelques applications principales (tableau IX) :

Tableau IX : Les applications de la radio_dosage immunologique

Domaine d'application	Utilisation principale	Exemples
Endocrinologie	Mesure des hormones circulantes dans le sang afin d'évaluer le fonctionnement des glandes endocrines.	Insuline, TSH, T3, T4, hormone de croissance, hormones stéroïdiennes.
Diagnostic des maladies infectieuses	Détection d'anticorps ou d'antigènes spécifiques pour identifier une infection.	VIH, hépatites virales, infections à <i>Salmonella</i> .
Oncologie	Recherche et suivi de marqueurs tumoraux pour le diagnostic et la surveillance des cancers.	Antigène carcino-embryonnaire (CEA), autres marqueurs tumoraux.
Pharmacologie	Dosage des médicaments dans le sang afin d'adapter les traitements et éviter la toxicité.	Médicaments à marge thérapeutique étroite (anticonvulsivants, immunosuppresseurs, etc.).
Immunologie	Quantification des molécules impliquées dans la réponse immunitaire.	Anticorps, cytokines, protéines immunitaires.

II.9. Vaccination et sérothérapie :

La vaccination et la sérothérapie sont deux méthodes de protection contre les maladies infectieuses reposant sur les mécanismes du système immunitaire. Bien qu'elles aient le même objectif, elles diffèrent par leur mode d'action : la vaccination stimule l'organisme afin qu'il produise ses propres défenses immunitaires, tandis que la sérothérapie apporte directement des anticorps prêts à agir. Ces deux approches jouent un rôle essentiel dans la prévention et le traitement de nombreuses maladies.

II.9.1. Types d'immunité spécifique :

II.9.1.1. Immunité active : c'est un type d'immunité acquise qui se développe lorsque le système immunitaire est stimulé à produire des anticorps et des cellules mémoires en réponse à un agent pathogène ou un antigène. Cette immunité peut durer longtemps, parfois toute la vie, car l'organisme garde une "mémoire" de l'agent pathogène, permettant une réponse plus rapide et efficace lors de futures expositions.

Il existe deux manières principales de développer une immunité active :

- **Immunité Active Naturelle :** Elle se produit lorsqu'une personne est exposée naturellement à un agent pathogène, comme un virus ou une bactérie, et développe une réponse immunitaire.
 - **Exemple :** Lorsqu'on attrape une maladie comme la varicelle, le système immunitaire réagit en produisant des anticorps et des cellules mémoires. Si la personne est de nouveau exposée au virus de la varicelle, elle sera protégée grâce à cette mémoire immunitaire.
- **Immunité Active Artificielle :** Elle est acquise par l'administration d'un vaccin qui contient des antigènes (versions inoffensives ou atténuées du pathogène) pour stimuler la production d'anticorps et de cellules mémoires.
 - **Exemple :** Les vaccins contre la rougeole, les oreillons et la rubéole (ROR) permettent au système immunitaire de se préparer à combattre ces virus si la personne y est exposée à l'avenir.

❖ Caractéristiques de l'Immunité Active

- **Durabilité** : Elle est généralement de longue durée, parfois à vie, en particulier pour certains agents pathogènes ou après certaines vaccinations.
- **Temps de réponse** : La première réponse est plus lente car le corps prend quelques jours pour produire des anticorps et des cellules mémoires. Cependant, les expositions futures à l'agent déclenchent une réponse beaucoup plus rapide.
- **Mémoire Immunitaire** : L'immunité active repose sur la mémoire immunitaire, permettant une meilleure protection lors de futures infections.

II.9.1.2. Immunité passive est un type d'immunité acquise où une personne reçoit des anticorps produits par une autre source, plutôt que de les fabriquer elle-même. Contrairement à l'immunité active, qui est durable et développée par l'organisme en réponse à une infection ou une vaccination, l'immunité passive offre une protection immédiate mais temporaire, car les anticorps reçus finissent par disparaître sans laisser de mémoire immunitaire durable.

Il existe deux types principaux d'immunité passive :

- **Immunité Passive Naturelle** : Elle se produit naturellement lorsqu'une mère transmet des anticorps à son enfant, généralement par deux voies principales :
 - **Pendant la grossesse** : Les anticorps de la mère, en particulier les immunoglobulines de type G (IgG), traversent le placenta et protègent le fœtus contre certaines infections pendant les premiers mois de sa vie.
 - **Pendant l'allaitement** : Le lait maternel, notamment le colostrum (produit dans les premiers jours après la naissance), contient des anticorps (surtout les immunoglobulines de type A, ou IgA) qui aident à protéger le nourrisson contre les infections gastro-intestinales et respiratoires.

Ces anticorps offrent une protection temporaire, jusqu'à ce que le système immunitaire du bébé commence à produire ses propres anticorps.

- **Immunité Passive Artificielle** : Elle se produit lorsqu'on injecte directement des anticorps dans l'organisme pour offrir une protection rapide contre une infection ou une

toxine. Cela peut être nécessaire en cas d'exposition récente à un agent pathogène dangereux, ou lorsqu'une personne est immunodéprimée.

- **Exemples :**

- **Sérum antitétanique** : Après une exposition à une plaie contaminée, on peut administrer un sérum contenant des anticorps antitétaniques pour prévenir le tétanos.
- **Sérum antirabique** : Si une personne est mordue par un animal potentiellement porteur de la rage, un sérum contenant des anticorps antirabiques peut être administré pour prévenir l'infection.
- **Traitements par anticorps monoclonaux** : Dans certaines infections comme la COVID-19, des anticorps monoclonaux spécifiques sont parfois administrés pour offrir une protection temporaire.

La protection offerte est généralement temporaire, de quelques semaines à quelques mois, car les anticorps injectés finissent par être dégradés et ne stimulent pas la production de cellules mémoires.

Caractéristiques de l'Immunité Passive

- **Durée de protection limitée** : La protection ne dure que le temps de vie des anticorps introduits (environ 2 à 3 semaines), car le corps ne produit pas de nouvelles cellules mémoires.
- **Protection immédiate** : Contrairement à l'immunité active, qui peut prendre plusieurs jours ou semaines pour se développer, l'immunité passive agit instantanément, ce qui est particulièrement utile dans les situations d'urgence.

II.9.2: Vaccination : La vaccination est une méthode de prévention des maladies infectieuses qui consiste à introduire dans l'organisme une version inoffensive d'un agent pathogène (ou une protéine de cet agent) pour stimuler le système immunitaire. Cela permet de créer une mémoire immunitaire qui, en cas de future exposition au véritable agent pathogène, permet au corps de réagir plus rapidement et efficacement, évitant ainsi la maladie ou réduisant sa gravité.

II.9.2.1 : Comment fonctionne la Vaccination ?

La vaccination fonctionne en simulant une infection pour provoquer une réponse immunitaire sans causer la maladie. Le système immunitaire identifie des fragments spécifiques du pathogène (comme une protéine ou un antigène) et produit des cellules immunitaires et des anticorps qui reconnaîtront et attaqueront le pathogène réel en cas de future infection.

1. **Présentation de l'antigène** : Le vaccin contient un antigène, qui est une version affaiblie, inactivée, ou partielle du pathogène, comme une protéine ou un ARN.
2. **Réponse immunitaire primaire** : Lors de la première exposition à cet antigène, le système immunitaire produit des anticorps et des cellules mémoires spécifiques à l'antigène.
3. **Mémoire immunitaire** : En cas d'exposition ultérieure au pathogène réel, ces cellules mémoires réagissent plus rapidement et efficacement, neutralisant l'infection.

II.9.2.2 : Les vaccins ; sont constitués de différentes manières : certains contiennent une version affaiblie ou inactivée de l'agent pathogène, d'autres utilisent seulement une partie spécifique du pathogène (comme une protéine ou un antigène), et les vaccins plus récents, comme les vaccins à ARN, contiennent des instructions pour que les cellules du corps produisent elles-mêmes une protéine du pathogène, déclenchant ainsi une réponse immunitaire.

II.9.2.3. Types de vaccins

- **Les vaccins à germes vivants atténués** : A partir de bactéries ou de virus vivants que l'on a fait muter pour qu'ils perdent leur caractère infectieux mais pas leur caractère antigénique. Exemples : Rougeole, oreillons, rubéole (ROR), Fièvre jaune, Varicelle, BCG (tuberculose).
- **Les vaccins à germes inactivés (tués)** : Préparés à partir de cultures microbiennes inactivées par divers procédés : chaleur, formol (le vaccin contre la coqueluche). Exemples : Poliomyélite, Hépatite A, Rage.
- **Vaccins à sous-unités, conjugués ou polysaccharidiques** : Contiennent des parties spécifiques de l'agent pathogène (protéines, sucres) pour stimuler une réponse ciblée. Exemples : Hépatite B, Papillomavirus humain (HPV), Pneumocoque Méningocoque.

- **Vaccins à ARNm** : Fournissent des instructions génétiques (ARNm) aux cellules pour fabriquer une protéine spécifique de l'agent pathogène. Cela déclenche une réponse immunitaire. Exemples : COVID-19.
- **Vaccins vectoriels** : Utilisent un virus inoffensif (vecteur) pour transporter le matériel génétique codant pour une protéine de l'agent pathogène cible. Exemples : COVID-19, Ebola.
- **Vaccins à toxoïdes** : Contiennent des toxines inactivées produites par l'agent pathogène. Protègent contre les effets toxiques de l'infection. Exemples : Tétanos, Diphtérie.
- **Caractéristiques générales et modalités d'utilisation des vaccins**
 - ❖ Différents produits sont généralement ajoutés aux vaccins (adjuvants, stabilisants, diluants, antibiotiques) nécessaires à l'efficacité et à la conservation du vaccin.
 - ❖ L'association des vaccins augmente leur pouvoir immunogène. Ces vaccins contiennent plusieurs antigènes permettant de protéger contre plusieurs maladies en même temps. Exemples : **ROR** (Rougeole, Oreillons, Rubéole) et **DTCoQ** (Diphtérie, Tétanos, Coqueluche).
 - ❖ De nombreux vaccins sont préparés à partir de plusieurs souches afin de conférer une protection contre plusieurs variantes ou sérotypes d'un même agent pathogène. Cela permet d'augmenter leur efficacité et leur couverture pour prévenir des infections causées par différentes formes du même micro-organisme.
 - ❖ **Nécessité de faire plusieurs injections ((Doses de rappel))** : La première série d'injections est renforcée par des rappels pour maintenir l'immunité à long terme.

II.9.2.4. Les modes d'administration des vaccins dépendent de la nature du vaccin, de l'âge de la personne vaccinée et de la meilleure voie pour stimuler une réponse immunitaire efficace. Voici les principales voies d'administration :

- **Injection (voie parentérale)** : Intramusculaire (Vaccin DTP), Sous cutanée (Vaccin ROR), Intradermique (Test tuberculinique, BCG).
- **Voie orale** (Vaccin contre la poliomyélite).
- **Voie intranasale** (grippe saisonnière).

II.9.3. Sérothérapie : La sérothérapie est l'utilisation thérapeutique d'immun sérums ou d'anticorps. C'est un geste curatif (=soignant) réalisé après une contamination pour compléter l'action naturelle du système immunitaire. Les anticorps présents dans le sérum agissent en neutralisant directement les agents pathogènes (bactéries, virus) ou leurs toxines. Contrairement à la vaccination, qui stimule la production d'anticorps par le système immunitaire du patient (immunité active), la sérothérapie fournit une immunité immédiate, bien que temporaire.

II.9.3.1. Origine du sérum :

- Produits à partir du sang d'animaux (généralement des chevaux) immunisés contre un agent pathogène. Exemple : sérum antitétanique ou antisérums contre les venins de serpents.
- Sérums préparés à partir de dons de plasma de personnes immunisées. Exemple : immunoglobulines contre la rage ou l'hépatite B.

II.9.3.2. Exemples d'utilisation de la sérothérapie : La sérothérapie est utilisée pour :

- Corriger une déficience ou pour modifier l'état immunitaire au cours de maladies : Leucémie, un myélome (cancer de la moelle osseuse), ou à des infections récidivantes chez les immunodéprimés
- ❑ Neutralisation d'une toxine : Les immunoglobulines antitétaniques, immunoglobulines antidiphthériques
- Des immunoglobulines anti-venin d'origine plasmatique équine destinées au traitement des morsures de vipères
- Inhibition d'un processus infectieux (rage, hépatite, rubéole)
- Immunoglobuline anti-Rhésus
- Immunoglobulines contre les rejets de greffes, traitement de certains lymphomes.

II.9.3.3. Effets indésirables de la sérothérapie

- ❖ Transmission d'agents infectieux
- ❖ Chocs anaphylactiques
- ❖ Céphalées, des arthralgies-myalgies, des douleurs thoraciques, fièvre, prurit...
- ❖ Réactions allergiques.

III. Dysfonctionnement du système immunitaire

Le dysfonctionnement du système immunitaire survient lorsque ce dernier ne fonctionne pas correctement, entraînant des conséquences variées pour la santé. On distingue :

Le dysfonctionnement par excès : L'hypersensibilité et maladies auto-immunes.

Le dysfonctionnement par défaut : déficit immunitaire ou immunodéficiences.

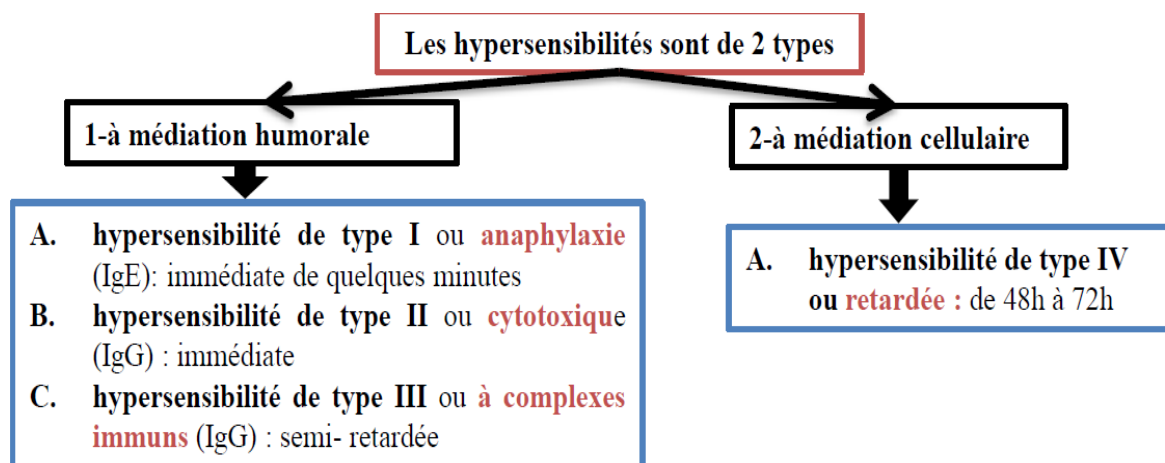
L'allergie est une réaction excessive et anormale du système immunitaire face à une substance généralement inoffensive pour la plupart des individus, appelée allergène. Cette réponse implique principalement des anticorps IgE et des cellules immunitaires, déclenchant divers symptômes pouvant aller de légers à graves.

III.1. L'hypersensibilité :

III.1.1. Définition : désigne une réponse exagérée ou inappropriée du système immunitaire à des substances souvent inoffensives ou à des stimuli. Cette réponse entraîne des dommages pour l'organisme, en raison d'une réaction excessive ou prolongée.

III.1.2. Types de l'hypersensibilité :

Les types d'hypersensibilité sont classés selon la classification de Gell et Coombs en quatre grands types (I à IV), en fonction du mécanisme immunologique impliqué.



III.1.2.1. Hypersensibilité de type I — Immédiate :

L'hypersensibilité de type I constitue une réaction immunitaire médiée par les immunoglobulines de type E (IgE) et implique principalement les mastocytes et les médiateurs chimiques, se manifestant de manière immédiate, généralement dans un délai de quelques

minutes, suite à une nouvelle exposition à un allergène. Le Mécanisme immunologique est en deux phase (Figure 69)

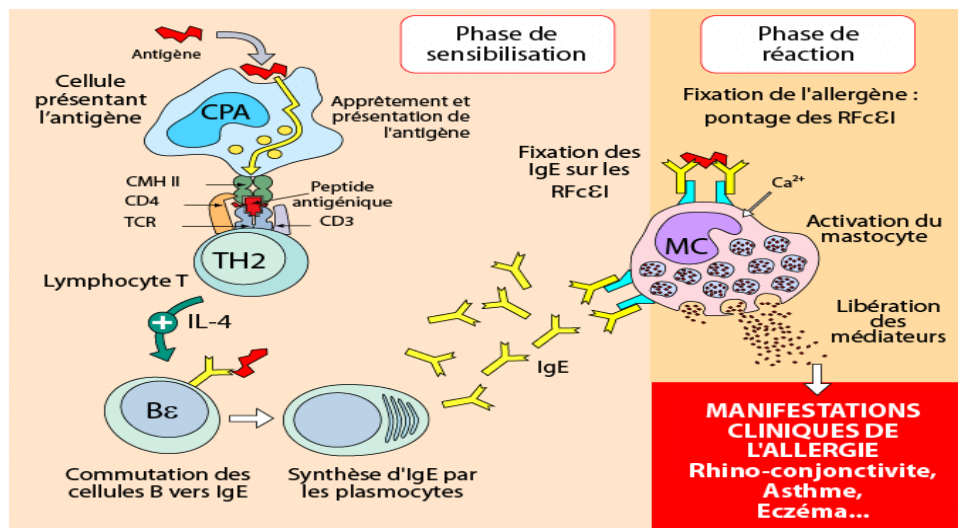


Figure 69 : Mécanisme immunologique de l'hypersensibilité de type I (allergie immédiate)

A) Phase de sensibilisation (*asymptomatique*) :

Lors du premier contact, l'allergène est capté par une CPA et présenté au lymphocyte Th2, qui stimule un lymphocyte B à produire des IgE spécifiques. Ces IgE se fixent ensuite sur les mastocytes. Aucun symptôme n'apparaît à ce stade.

B) Phase de réaction (*symptomatique*) :

Au second contact, l'allergène se lie aux IgE fixées sur les mastocytes, entraînant leur dégranulation et la libération de médiateurs (histamine, etc.), provoquant les symptômes allergiques.

Les médiateurs libérés lors de la réaction allergique provoquent une vasodilatation et un œdème, entraînant rougeur et gonflement. Ils induisent également une bronchoconstriction, une sécrétion excessive de mucus, ainsi que des démangeaisons (prurit) et des éruptions cutanées (urticaire) caractéristiques des manifestations allergiques.

III.1.2.2. Hypersensibilité de type II : Cytotoxique :

L'hypersensibilité de type II est une réponse immunitaire spécifique où les anticorps IgG ou IgM se fixent sur des antigènes qui se trouvent à la surface des cellules (généralement des

cellules de l'organisme lui-même), ce qui conduit à leur destruction. Le mécanisme immunologique est comme illustrée sur la figure 70.

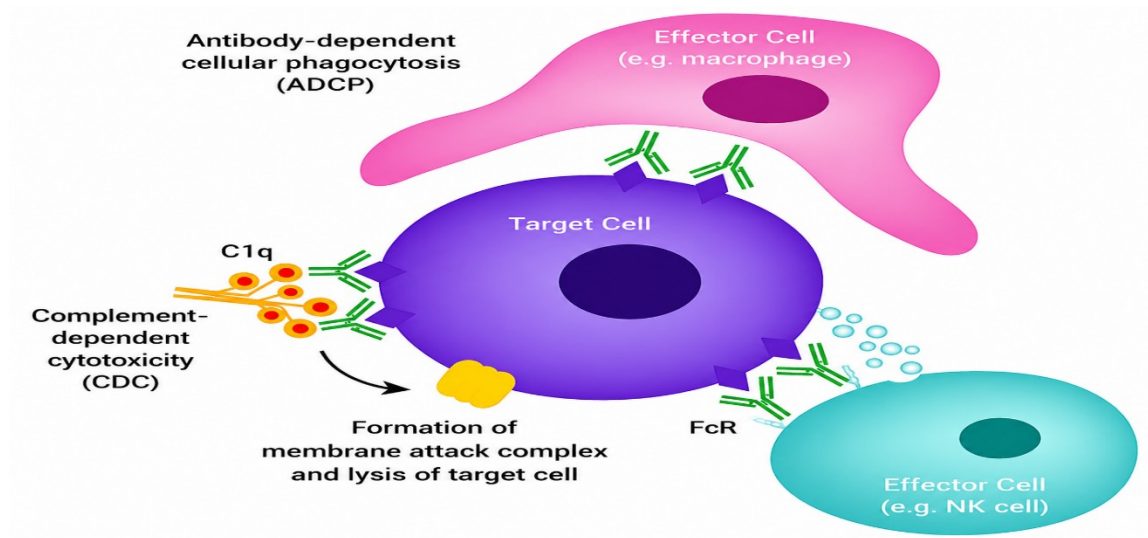


Figure 70 : mécanismes impliqués dans l'hypersensibilité type II

- ❖ Un antigène est exprimé à la surface d'une cellule cible (ex : globule rouge, cellule rénale...)
- ❖ Des anticorps IgG ou IgM sont dirigés contre cet antigène.
- ❖ La liaison anticorps-antigène active :
 - Le complément → formation de pores (complexe d'attaque membranaire) → lyse cellulaire.
 - La phagocytose via opsonisation (reconnaissance des cellules marquées).
 - La cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps (ADCC) via les cellules NK.

III.1.2.3. Hypersensibilité de type III : A complexes immun :

L'hypersensibilité de type III est due à la formation excessive de complexes immuns (antigènes + anticorps IgG/IgM) qui ne sont pas éliminés correctement. Ces complexes se déposent dans les tissus (reins, articulations, vaisseaux...) et provoquent une inflammation locale par activation du complément et recrutement des neutrophiles. Le mécanisme immunologique est comme suit :

1. Présence d'antigènes solubles (exogènes ou endogènes).
2. Formation de complexes immuns circulants (Ag - Ac).
3. Dépôt de ces complexes dans certains tissus (parois vasculaires, glomérules...).

4. Activation du complément → production de C3a, C5a → chimiotactisme des neutrophiles.
5. Les neutrophiles libèrent des enzymes protéolytiques et des radicaux libres → inflammation et lésions tissulaires (Figure 71).

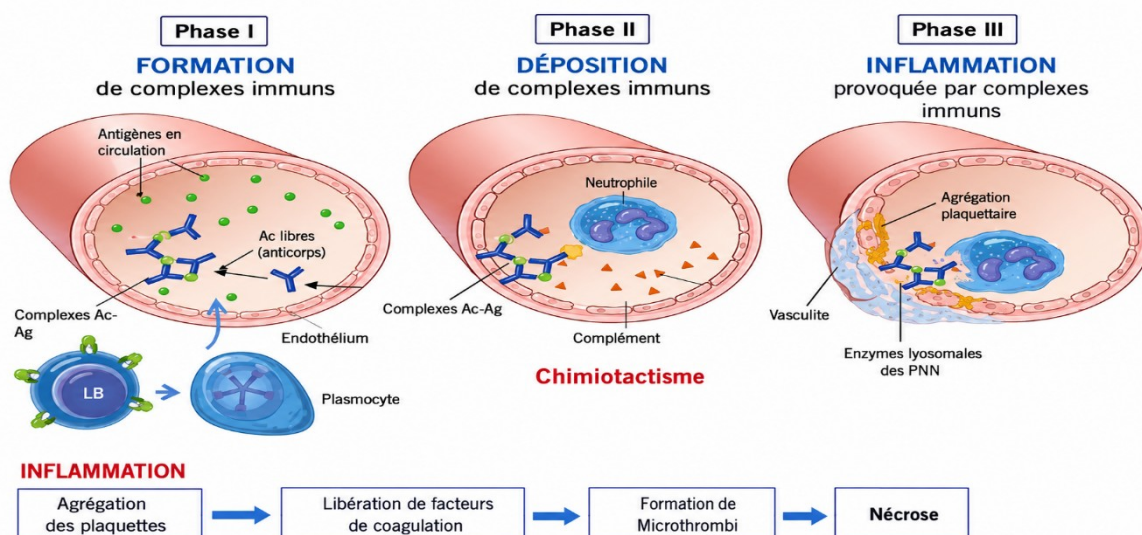


Figure 71 : Mécanismes immunologiques de l'hypersensibilité de type III

III.1.2.4 : Hypersensibilité de type IV ou retardée : L'hypersensibilité de type IV est une réaction immunitaire cellulaire retardée, médiée par les lymphocytes T, sans intervention des anticorps. Elle survient 24 à 72 heures après le contact avec l'antigène.

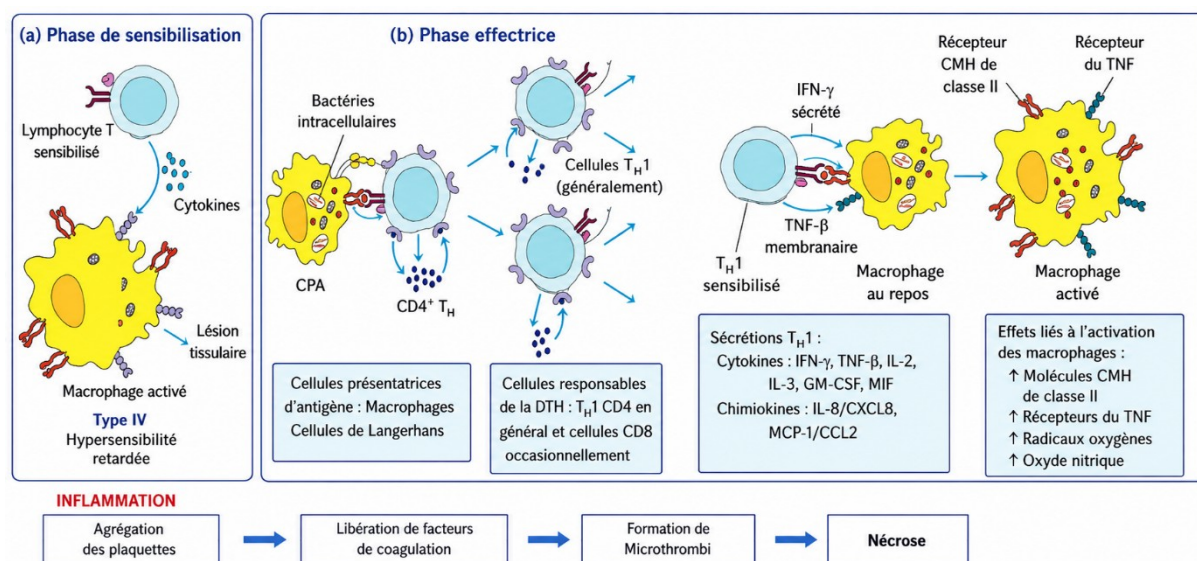


Figure 72 : Mécanismes impliqués dans l'hypersensibilité type IV

Le mécanisme de l'hypersensibilité de type IV est en deux phases (figure 72) :

Phase de sensibilisation :

L'antigène est capté par une CPA et présenté aux lymphocytes T (CD4+ ou CD8+), qui deviennent des cellules mémoire. Aucun symptôme n'apparaît.

Phase effectrice :

Lors d'un second contact, les lymphocytes T mémoire reconnaissent l'antigène, libèrent des cytokines (IFN- γ , TNF- α), activent les macrophages, provoquant une **inflammation retardée**, avec **œdème** et parfois **lésions tissulaires**.

Tableau X : les manifestations cliniques principales pour chaque type d'hypersensibilité selon la classification de Gell et Coombs

Type d'hypersensibilité	Mécanisme principal	Manifestations cliniques principales	Exemples de maladies ou réactions
Type I (immédiate, allergique)	Médiée par les IgE et la libération d'histamine par mastocytes et basophiles	Urticaire, œdème de Quincke, bronchospasme, asthme allergique, rhinite allergique, choc anaphylactique	Allergies alimentaires, asthme allergique, anaphylaxie, rhinite allergique
Type II (cytotoxique)	Anticorps IgG ou IgM dirigés contre des antigènes cellulaires	Hémolyse, thrombocytopénie, nécrose tissulaire, cytolyse	Anémie hémolytique auto-immune, maladie hémolytique du nouveau-né, réactions transfusionnelles
Type III (complexes immuns)	Dépôt de complexes Ag-Ac dans les tissus, inflammation locale	Vasculite, arthrite, glomérulonéphrite, rash cutané	Lupus érythémateux disséminé, syndrome de sérum sickness, arthrite rhumatoïde
Type IV (à médiation cellulaire, retardée)	Réaction médiée par les lymphocytes T, inflammation cellulaire	Dermatite de contact, induration, granulomes, nécrose tissulaire	Dermatite de contact, tuberculose (test à la tuberculine), rejet de greffe, maladie cœliaque

III.1.3. Diagnostic de l'hypersensibilité :

Le diagnostic de l'hypersensibilité vise à mettre en évidence une réponse immunitaire excessive à un antigène donné. Il repose sur différentes techniques cliniques et immunologiques permettant d'identifier le mécanisme et l'agent responsable de la réaction.

a) Interrogatoire et examen clinique

L'étape la plus essentielle : L'interrogatoire et l'examen clinique constituent la première étape du diagnostic de l'hypersensibilité, permettant d'identifier les symptômes, les circonstances de leur apparition et les facteurs susceptibles d'être responsables de la réaction allergique.

- **Contexte d'apparition :** Exposition à un médicament, un aliment, du pollen, un venin, etc.
- **Délai de survenue :** immédiat (minutes à heures) ou retardé (jours).
- **Type de manifestations :** cutanées (urticaire, œdème), respiratoires, digestives, cardiovasculaires, etc.
- **Terrain à risque :** antécédents personnels ou familiaux d'allergie ou d'auto-immunité.

Importance : L'interrogatoire et l'examen clinique sont essentiels car ils orientent le diagnostic en permettant de suspecter le type d'hypersensibilité, d'identifier les allergènes potentiels et de guider le choix des examens complémentaires à réaliser.

b) Tests in vivo

- Réalisés directement sur le patient, évaluant la réaction cutanée à l'allergène.

➤ Prick Test

- **Type d'hypersensibilité détectée :** Type I (immédiate, IgE médiée).
- **Principe :** Introduction d'une petite quantité d'allergène (figure 73) par piqure superficielle dans la peau.
- **Lecture :** 15-20 minutes après.
- **Utilisation :** Allergies respiratoires, alimentaires, médicamenteuses immédiates.

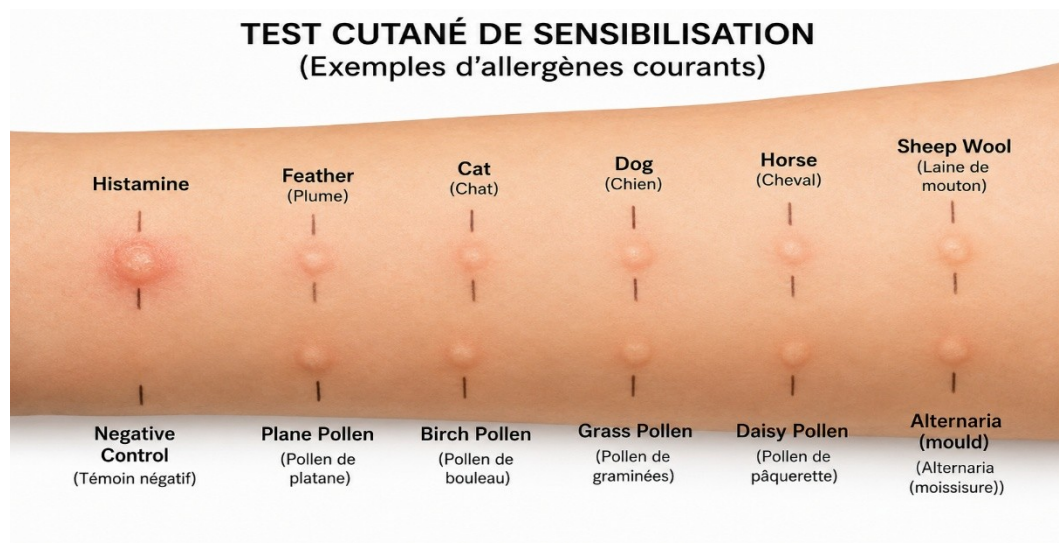


Figure 73: Prick Test

➤ Patch Test (Test épicutané)

- **Type d'hypersensibilité détectée :** Hypersensibilité de type IV (retardée). Cette réaction est médiée par les lymphocytes T sensibilisés qui, après reconnaissance de l'allergène, déclenchent une réponse inflammatoire locale.
- **Principe :** Des allergènes suspects sont appliqués sur la peau, généralement au niveau du dos, à l'aide de patchs adhésifs. Après 48 à 72 heures, la peau est examinée afin de rechercher une réaction inflammatoire locale (érythème, induration, vésicules), indiquant une sensibilisation à l'allergène testé. (figure 74).
- **Utilisation :** Dermate de contact, allergies médicamenteuses retardées.

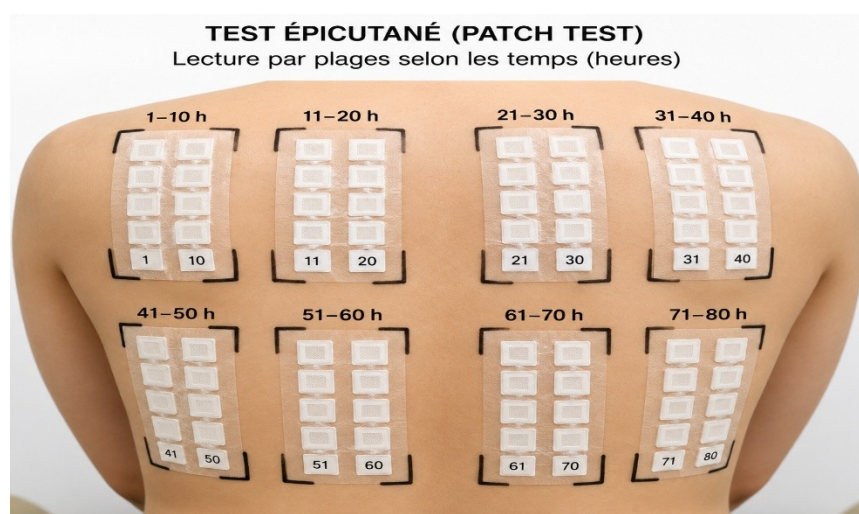


Figure 74: Patch Test (Test épicutané)

➤ Tests de provocation

Test de réintroduction contrôlée en milieu médicalisé consistant à administrer progressivement l'allergène suspecté au patient afin de confirmer ou d'exclure sa responsabilité dans la réaction d'hypersensibilité lorsque les autres examens diagnostiques ne permettent pas d'établir un diagnostic certain.

c) Tests in vitro d'exploration allergologique

➤ Tests d'exploration du terrain allergique

- **IgE totales** : Mesure globale des immunoglobulines E dans le sang, indicatif d'une atopie. Pour le dosage des IgE totales : Radio-Immuno-Sorbent Test (RIST), ELISA en microplaque.
- **Recherche d'éosinophilie** : Évaluation du nombre d'éosinophiles, souvent augmenté en cas d'allergie.

➤ Tests de recherche de l'agent causal

- **IgE spécifiques circulantes** : Recherche des IgE dirigées contre un allergène particulier. Les tests utilisés sont: RAST (Radio-Allergo-Sorbent Test) et EAST (ELISA-Allergo-Sorbent Test)
- **IgE spécifiques fixées sur les basophiles** :
 - **TDBH** : Test de dégranulation des basophiles humains.
 - **TLH** : Test de libération de l'histamine.

➤ Tests spécialisés

- **Prostaglandines** : Médiateurs de l'inflammation impliqués dans les réactions allergiques.
- **Leucotriènes (LTC₄, LTD₄, LTE₄)** : Autres médiateurs impliqués dans l'asthme allergique et l'inflammation.
- **Tryptase** : Enzyme libérée par les mastocytes, utile dans le diagnostic de l'anaphylaxie.
- **Cytokines** : (IL-4, IL-13, IL-5, IL-6) : Marqueurs d'une réponse immunitaire Th2, typique des allergies.

III.1.4. Traitement pharmacologique

Le traitement pharmacologique de l'hypersensibilité vise à prévenir, atténuer ou contrôler les manifestations cliniques résultant d'une réponse immunitaire excessive. Il repose sur l'utilisation de médicaments agissant à différents niveaux de la réaction immunitaire afin de soulager les symptômes et de prévenir les complications.

Tableau XI : Traitement pharmacologique de l'hypersensibilité.

Classe thérapeutique	Exemple(s)	Mécanisme d'action / Effets	Indications principales
Anti-histaminiques H1	Cétirizine, Loratadine, Diphénhydramine	Inhibent l'action de l'histamine sur les vaisseaux sanguins et les fibres musculaires lisses. Réduisent le prurit, l'œdème et les manifestations allergiques.	Rhinite allergique, urticaire, conjonctivite allergique.
Stabilisateurs des mastocytes	Cromoglycate de sodium	Préviennent la dégranulation des mastocytes et donc la libération des médiateurs de l'inflammation (histamine, leucotriènes, etc.).	Prévention des réactions allergiques, asthme allergique.
Sympathomimétiques (β-adrénergiques)	Salbutamol, Adrénaline	Induisent une bronchodilatation et une vasoconstriction.	Crises d'asthme, réactions allergiques aiguës, choc anaphylactique.
Théophylline et dérivés	Théophylline	Relaxent les muscles lisses bronchiques et provoquent une bronchodilatation.	Asthme et certaines affections respiratoires obstructives.
Corticostéroïdes (Corticoïdes)	Prednisone, Dexaméthasone, Budésonide	Puissants anti-inflammatoires : diminuent la perméabilité vasculaire, réduisent l'œdème, inhibent le chimiotactisme et la production de cytokines inflammatoires.	Asthme sévère, dermatite atopique, rhinite allergique sévère, réactions allergiques importantes.
Voies d'administration des corticostéroïdes	Spray nasal, inhalateur, comprimés, injection IV	Administration locale ou systémique selon la gravité de la réaction allergique.	Traitement local ou généralisé des manifestations allergiques.

III.2. Maladies auto-immunes

III.2.1. Définition :

Les maladies auto-immunes constituent un groupe de pathologies résultant d'un dysfonctionnement du système immunitaire, qui perd sa capacité à distinguer le soi du non-soi. Le système immunitaire attaque alors les cellules, les tissus ou les organes de l'organisme comme s'ils étaient des éléments étrangers, entraînant une inflammation et des lésions tissulaires de gravité variable. Ces maladies peuvent être spécifiques d'un organe ou affecter plusieurs organes et systèmes à la fois. Il y a production d'auto-anticorps (auto-Ac).

- Les tissus atteints sont infiltrés par des plasmocytes, des lymphocytes T cytotoxiques (LTc) et des phagocytes.
- Tous les organes peuvent potentiellement devenir la cible du système immunitaire.

III.2.2. Classification :

a) Maladies auto-immunes spécifiques d'organe

- Touchent **un organe précis**
- Exemples :
 - **Diabète de type 1 (pancréas) :** Maladie auto-immune où le système immunitaire détruit les cellules bêta des îlots de Langerhans du pancréas, responsables de la production d'insuline → provoque une hyperglycémie chronique.
 - **Thyroïdite de Hashimoto (thyroïde) :** Affection auto-immune chronique dans laquelle des auto-anticorps détruisent la thyroïde, entraînant une hypothyroïdie progressive (fatigue, prise de poids, frilosité...).
 - **Myasthénie (jonction neuromusculaire) :** Maladie auto-immune affectant la transmission neuromusculaire, due à des anticorps dirigés contre les récepteurs de l'acétylcholine, provoquant une faiblesse musculaire fluctuante.

b) Maladies auto-immunes systémiques

- Impliquent plusieurs organes ou systèmes
- Exemples :
 - **Lupus érythémateux disséminé (LED) :** Maladie auto-immune systémique caractérisée par la production d'auto-anticorps dirigés contre l'ADN et les noyaux cellulaires, affectant plusieurs organes (peau, articulations, reins, cœur...).

- **Polyarthrite rhumatoïde :** Inflammation chronique des articulations synoviales causée par des lymphocytes T et des auto-anticorps (facteur rhumatoïde, anti-CCP), menant à une destruction progressive des articulations.
- **Sclérodermie :** Maladie auto-immune caractérisée par une fibrose progressive de la peau et des organes internes (poumons, reins, tube digestif), liée à une activation anormale des fibroblastes et du système immunitaire.

III.2.3. Mécanismes immunopathologiques des maladies auto-immunes

Les maladies auto-immunes résultent de défaillances dans les mécanismes de tolérance immunitaire, conduisant à une réponse anormale dirigée contre les constituants du "soi".

a) Perte de tolérance au soi

Le système immunitaire échoue à distinguer le "soi" du "non-soi", ce qui permet à certains lymphocytes autoréactifs de s'activer :

- **Tolérance centrale défaillante :**
 - Se produit dans le thymus (lymphocytes T) ou la moelle osseuse (lymphocytes B)
 - Les cellules autoréactives ne sont pas éliminées correctement lors de leur développement
- **Tolérance périphérique altérée :**
 - Défaut des mécanismes de contrôle post-développemental
 - Manque de régulation par les lymphocytes T régulateurs (Treg)
 - Échec de l'anergie ou de la délétion périphérique

b) Activation anormale des lymphocytes

Des lymphocytes B et T auto-réactifs sont activés :

- Lymphocytes T CD4⁺ aident à produire des cytokines inflammatoires
- Lymphocytes B produisent des auto-anticorps (ex. : anti-ADN dans la LED)
- Complexes immuns circulants peuvent se déposer dans les tissus → inflammation et lésions

c) Rôle des cytokines pro-inflammatoires

Les cytokines comme IL-1, IL-6, TNF- α , IFN- γ amplifient la réponse immunitaire, attirent les cellules effectrices et entretiennent l'inflammation chronique.

d) Facteurs génétiques et environnementaux

- Prédisposition génétique (gènes HLA, CTLA-4, PTPN22...)
- Facteurs déclenchants : infections virales, toxines, stress oxydatif, médicaments...

❖ Conséquences

- Destruction de l'organe cible (ex. : cellules β dans le diabète de type 1)
- Inflammation chronique (ex. : articulations dans la polyarthrite rhumatoïde)
- Dysfonction systémique (ex. : atteintes multiorganiques dans le lupus)

III.2.4. Diagnostic : Leur diagnostic repose sur des éléments cliniques et biologiques, parfois complétés par des données histologiques (analyse de biopsies), génétiques et d'imagerie.

a) Marqueurs auto-immuns :

- **Facteur rhumatoïde (FR) :** arthrite rhumatoïde (non spécifique).
- **Anticorps antinucléaires (AAN/ANA) :** test de base (présents dans lupus, sclérodermie, etc.).
- **Anticorps spécifiques :**
 - **Anti-dsDNA, anti-Sm :** lupus érythémateux disséminé.
 - **Anti-CCP :** arthrite rhumatoïde.
 - **Anticorps anti-TPO, anti-thyroglobuline :** thyroïdite de Hashimoto.

b) Examens complémentaires ciblés

Selon les symptômes et la suspicion :

- **Biopsie** (peau, rein, glande salivaire...) pour étude histologique.
- **IRM ou scanner :** atteintes neurologiques ou articulaires.
- **Tests fonctionnels :** spirométrie (atteinte pulmonaire), tests ophtalmologiques, etc.

III.2.5. Traitement : Le traitement des maladies auto-immunes n'a pas pour but de "guérir" car on ne guérit pas d'un dérèglement immunitaire chronique — mais plutôt de :

1. Réduire les symptômes,
2. Freiner la progression de la maladie,
3. Préserver la qualité de vie et les fonctions des organes cibles.

a) Traitement symptomatique de base

C'est la première ligne pour améliorer la vie au quotidien.

- **Anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS)** : pour les douleurs articulaires et musculaires.
- **Antalgiques** : du paracétamol
- **Corticoïdes** : pour réduire rapidement l'inflammation (prednisone)

b) Traitement de fond (immunomodulateur ou immunosuppresseur) : réduire ou contrôler l'activité excessive du système immunitaire afin de limiter les lésions tissulaires et prévenir les poussées de la maladie.

❖ **Médicaments immunosuppresseurs classiques :**

- **Méthotrexate** : souvent utilisé dans la polyarthrite rhumatoïde.
- **Azathioprine** : lupus, maladies auto-immunes digestives.
- **Cyclophosphamide** : formes sévères ou réfractaires.
- **Mycophénolate mofétil** : surtout dans le lupus rénal.

❖ **Biothérapies ciblées :**

- **Anti-TNF α** (infliximab, adalimumab) : polyarthrite, Crohn, psoriasis.
- **Anti-IL-6, IL-17, IL-1** (canakinumab, anakinra) selon la pathologie.
- **Anti-CD20 (rituximab)** : lupus, sclérose en plaques, certaines vascularites.
- **La fraction C5 du complément** (éculizumab)
- **Inhibiteurs de JAK ((inhibiteurs de Janus kinase) comme tofacitinib et baricitinib** : nouvelles molécules prometteuses. Les anti-JAK réduisent la production de cytokines pro-inflammatoires, modulent la réponse immunitaire excessive et permettent d'atténuer l'inflammation et la progression de la maladie.

- Abbas, A. K., Lichtman, A. H., & Pillai, S. (2020). *Cellular and Molecular Immunology* (10th ed.). Elsevier.
- Abbas, A. K., Lichtman, A. H., & Pillai, S. (2022). *Cellular and Molecular Immunology* (10th ed.). Elsevier.
- Coico, R., Sunshine, G., & Benjamini, E. (2015). *Immunology: A Short Course* (7th ed.). Wiley-Blackwell.
- Chapel, H., Haeney, M., Misbah, S., & Snowden, N. (2014). *Essentials of Clinical Immunology* (6th ed.). Wiley-Blackwell.
- Coligan, J. E., Kruisbeek, A. M., Margulies, D. H., Shevach, E. M., & Strober, W. (2001). *Current Protocols in Immunology*. Wiley-Interscience.
- Coligan, J. E., Merrill, A. K., Segal, D. H., Sher, A., & Papadopoulos, N. G. (1991). *Current Protocols in Immunology*. Wiley.
- Delves, P. J., Martin, S. J., Burton, D. R., & Roitt, I. M. (2017). *Roitt's Essential Immunology* (13th ed.). Wiley-Blackwell.
- Friedman, H., Specter, S., & Bendinelli, M. (2000). *Immunology of Infectious Diseases*. Springer.
- Gallin, J. I., & Snyderman, R. (1999). *Inflammation: Basic Principles and Clinical Correlates* (3rd ed.). Lippincott Williams & Wilkins.
- Herzenberg, L. A., Weir, D. M., Blackwell, C., & Herzenberg, L. A. (1997). *Weir's Handbook of Experimental Immunology* (5th ed.). Blackwell Science.
- Janeway, C. A., Travers, P., Walport, M., & Shlomchik, M. J. (2001). *Immunobiology: The Immune System in Health and Disease* (5th ed.). Garland Science.
- Kindt, T. J., Goldsby, R. A., & Osborne, B. A. (2006). *Kuby Immunology* (6th ed.). W. H. Freeman.
- Kumar, V., Abbas, A. K., & Aster, J. C. (2018). *Robbins Basic Pathology* (10th ed.). Elsevier.
- Male, D., Brostoff, J., Roth, D. B., & Roitt, I. (2012). *Immunology* (8th ed.). Mosby Elsevier.
- Morgan, B. P., & Frank, M. M. (2000). *The Complement System: Methods and Protocols* (1st ed.). Humana Press.
- Murphy, K., & Weaver, C. (2016). *Janeway's Immunobiology* (9th ed.). Garland Science.
- Paul, W. E. (2012). *Fundamental Immunology* (7th ed.). Lippincott Williams & Wilkins.
- Parham, P. (2014). *The Immune System* (4th ed.). Garland Science.
- Rose, N. R., Friedman, H., & Fahey, J. L. (2001). *Manual of Clinical Immunology* (5th ed.). American Society for Microbiology.

Références bibliographiques

- Roitt, I., Brostoff, J., & Male, D. (2001). *Immunology* (6th ed.). Mosby.
- Ritz, J., Shaw, S., Silverstein, R., Springer, T. A., Tedder, T. F., & Todd, R. F. (1995). *Leukocyte Typing V: White Cell Differentiation Antigens*. Oxford University Press.
- Tizard, I. R. (2017). *Immunology: An Introduction* (9th ed.). Saunders.
- Weir, D. M., & Stewart, J. (1997). *Immunology* (8th ed.). Churchill Livingstone.
- Zola, H. (2004). *Monoclonal Antibodies: A Manual of Techniques*. CRC Press.

Liens:

Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology, EAACI guidelines (2020) :
<https://onlinelibrary.wiley.com/journal/13989995>

HAS (Haute Autorité de Santé), Guide de bonnes pratiques :
https://www.has-sante.fr/jcms/c_2046944/fr/allergies.

Mayo Clinic – Allergy testing:
<https://www.mayoclinic.org/tests-procedures/allergy-tests/about/pac-20392852>.

Société Française d'Allergologie :
<https://sfa.lesallergies.fr/recherche/?q=diagnosis+and+management>
<https://www.inserm.fr/dossier/maladies-auto-immunes/>
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8008874/>