

## **TD1 : Réaction anticorp-antigène :**

### **1. Notion d'anticorps et d'antigène**

**Antigène** est une molécule qui est reconnue comme étrangère par l'organisme et qui déclenche une réaction de défense. C'est une molécule qui contient des épitopes dont leur structure est définie et reconnus par les sites de liaisons des anticorps. Alors que l'**anticorps** est une molécule en forme de Y produite par les lymphocytes, l'anticorps est caractérisé par la présence des paratopes qui varient selon l'anticorps reconnaissant ainsi l'antigène, les neutralise et facilite la phagocytose

### **2. Le complexe immun :**

Les anticorps, émis par les lymphocytes B, neutralisent les antigènes en les accrochant sur leur site de fixation, formant ainsi un complexe immun.

L'anticorps possède une affinité spécifique pour un épitope particulier de l'antigène. Celui-ci est reconnu par le paratope de l'anticorps, qui correspond à la partie appelée variable.

L'interaction entre épitope et paratope est considérée comme la clé du complexe Ac-Ag. La complémentarité entre épitope et paratope induit la formation du complexe immunitaire.

Dans l'immuno-hématologie mettant en jeu les globules rouges, la fixation de l'antigène à l'anticorps conduit à une hypersensibilité de type II. Les réactions antigène-anticorps dans ce cas, activent le complément (C1q) ou les cellules effectrices (phagocytes mononucléés, neutrophiles).

### **3. Caractéristiques de la réaction Ac-Ag :**

**-Exothermique :** La formation d'une liaison Ac/Ag libérant de l'énergie, ce qui influence la température et donc un bon déroulement de la réaction.

**-Réversible :** les liaisons qui s'effectuent entre l'Ac et l'Ag sont des liaisons faibles, facilement rompues ce qui conduit à la dissolution du complexe Ag-Ac

**-Spécifique :** La spécificité de la réaction Ag-Ac dépend de la complémentarité spatiale entre le paratope et l'épitope, elle est très étroite. Cette spécificité n'est pas absolue, il existe des réactions croisées.

### **4. Techniques immunologique pour de détection de la réaction Ac-Ag :**

**1-Immunoagglutination:** La réaction d'agglutination est caractérisée par la réunion en amas « agglutinats » d'antigènes particuliers après fixation d'anticorps agglutinants. Les agglutinats peuvent être visualisés à l'oeil nu ou au microscope.

L'agglutination est directe lorsque les antigènes particuliers situés par exemple sur les globules rouges, globules blancs, plaquettes, micro-organismes sont agglutinés après leur simple mise en contact avec l'anticorps et indirecte lorsque l'on doit préalablement coupler les antigènes à des supports naturels (globules rouges humains ou animaux) ou synthétiques (latex, sépharose, etc).

**2-Immuno-précipitation:** Les réactions de précipitation ont lieu entre un anticorps et un antigène soluble : soit en milieu liquide ou gelifié, 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 ce qui conduit à leur précipitation.

L'immunoprécipitation en milieu liquide tel que le Test de l'anneau qui est Basé sur la diffusion des Ac et des Ag solubles), qui aboutissent lorsqu' il y a autant de paratope que d'épitopes au formation d'un anneau de précipitation

On cite aussi la technique de Heidelberg et Kendall dont le principe est basé sur le mélange une quantité constante d'Ac, et une quantité croissante d'Ag, la centrifugation, et la comparaison la quantité de précipité qui est en fonction de la concentration.

**3-L'immunoprécipitation en milieu gélifié** : l'intérêt du milieu gélifié est de permettre l'instauration de gradients réguliers de concentration décroissante à partir des réservoirs d'antigène ou d'anticorps. Les complexes immuns restent immobilisés dans les mailles du gel ce qui autorise l'élimination par lavage des réactifs non précipités et permet une meilleure lecture des zones de précipitation.

**-Immunodiffusion double en gel (technique d'Ouchterlony)** : est une méthode d'immunoprécipitation fondée sur la diffusion d'antigènes et d'anticorps en milieu solide (en général un gel d'agarose) à partir de puits placés en vis à vis. Lorsque les molécules d'anticorps rencontrent les molécules d'antigènes, la liaison antigène-anticorps conduit à la précipitation des complexes immuns dans la zone de rencontre si l'anticorps reconnaît l'antigène. Le précipité se forme dans la zone où les concentrations des deux solutions sont optimales pour que la quantité d'anticorps sature les sites antigéniques, c'est à dire la zone d'équivalence. Les précipités se présentent sous la forme d'un arc blanchâtre visible à l'œil nu.

**-Immunoélectrophorèse** : C'est une méthode qui sert à différencier plusieurs systèmes précipitants, elle est effectuée en 2 temps : séparation des protéines et révélation des protéines fixées

**-Immuno-fixation** : c'est une technique de précipitation en milieu gélifié résultante d'une électrophorèse d'une solution antigénique qu'on lui ajoute des Ac spécifiques . Ainsi elle induit la pénétration et la précipitation des Ac en présence des Ag correspondant

**4. L'immunofluorescence** : C'est une technique qui sert à marquer différentes molécules grâce aux anticorps rendus fluorescents, Elle utilise plusieurs types de molécules fluorescentes tel que la Fluorescéine Isothiocyanate et la Rhodamine. Elle met en jeu deux types d'anticorps : les anticorps primaires qui sont des anticorps dirigés spécifiquement vers l'antigène et les anticorps secondaires dirigés vers les anticorps primaires; ce sont eux qui portent généralement la molécule fluorescente.

Il existe deux d'immunofluorescence : directe et indirecte, l'immunofluorescence directe l'anticorps primaire couplé directement au molécule fluorescente alors que l'indirecte l'anticorps secondaire est porteur de molécule fluorescente et se lie spécifiquement à l'anticorps primaire. Un microscope à épifluorescence est nécessaire pour visualiser la fluorescence.

**5. L'immunoenzymologie :** Dans cette technique, l'antigène ou l'anticorps est marqué avec une enzyme, qui permet de transformer un substrat incolore en produit coloré.

L'immunoenzymologie met en œuvre deux types de réactions: Réactions qualitatives qui consistent soit à la détection de protéines après électrophorèse (Western-blot ) soit à la détection de protéines sur une coupe histologique, ou réactions quantitatives: tel que le dosage d'antigènes par la technique d'ELISA (direct, compétitif...)

## **6. Exemple de titration du complément :**

L'exploration du complément comporte des dosages hémolytiques permettant de mesurer l'activité fonctionnelle des protéines du complément comme le dosage du complément hémolytique 50 (CH50), et des dosages antigéniques quantitatifs comme les dosages des fractions C3, C4 et du facteur B.

Une exploration du complément est utilisée dans le contexte d'infections bactériennes à répétition, de maladies auto-immunes comme le lupus érythémateux systémique, ou d'un éventail large de pathologies qui sont associées à une consommation par la voie classique et/ou par la voie alterne.

Le dosage du complément hémolytique 50 (CH50) apprécie l'activité fonctionnelle globale de la voie classique et de la voie finale commune. La technique de référence mesure la lyse d'érythrocytes hétérologues en présence du plasma à tester, dans des conditions expérimentales définies où seulement la voie classique est amorcée.

Des techniques automatisables sont maintenant disponibles avec des performances variables. Les examens de première intention que sont le CH50 et les dosages antigéniques de C3 et C4 sont utilisés pour le dépistage des déficits homozygotes en composants de la voie classique et de la voie finale commune, pour le suivi des maladies auto-immunes associées à une consommation par la voie classique, et pour le suivi de quelques traitements. L'interprétation du CH50 en fonction des dosages de C3 et de C4 permet de comprendre l'origine acquise ou héréditaire d'une hypocomplémentémie. Le dosage du facteur B est un examen de seconde intention permettant d'apprécier l'activation de la voie alterne.