

**UNIVERSITE DE COCODY**



**UFR SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES  
UFR BIOSCIENCES**

# IMMUNOLOGIE

**Dr. INWOLEY  
Dr M. SALOU**

**Dr KOUAME Désiré**  
Assistant à l'Université d'Abidjan Cocody

## RAPPEL DU SYSTEME IMMUNITAIRE

### - INTRODUCTION

L'Immunité correspond à la fonction physiologique d'un être vivant lui permettant de développer des moyens de défenses naturelles ou acquises contre un agent pathogène pour arriver à cette défense dénommée «réponse immunitaire», des facteurs sont nécessaires: des cellulaires et humoraux qui interagissent pour assurer l'intégrité de l'individu.

**Le «S.I.»** : est l'ensemble de moyens de défense de l'organisme contre les agressions étrangères: *le Non Soi*, composé de facteurs humoraux et cellulaires constitué d'organes et de cellules.

### A/ - LES FACTEURS CELLULAIRES

**I/ - LES ORGANES** : Les organes du système immunitaire sont :

- Les «Organes Centraux ou Primaires» qui sont les lieux de production et de maturation des cellules de l'immunité; ce sont la *Moelle Osseuse* et le *Thymus*.

- Les «Organes Périphériques ou Secondaires ou Effecteurs», ce sont les lieux où se réalise la «réponse immunitaire» avec la rate et les ganglions : tissus annexés aux muqueuses = MALT qui jouent un rôle dans la réponse locale. Ex : plaques de Peyer, amygdales ...

**II/ - LES CELLULES** : ce sont essentiellement les «**Leucocytes**» divisés en 3 groupes

1/ - **Granulocytes ou Polynucléaires** : 3 types ( **PN Ba, Ne, Eo** ) dotés d'une action par phagocytose

2/ - **Monocytes (sang) / Macrophages** (tissu) = Cellule de Küppfer (foie) / de Langherhans (peau)

3/ - **Lymphocytes** : **L.T. / L.B.** == > **Ac / L non T non B** qui induisent une action cytotoxique non spécifique de l'Ag (ADCC). Au cours de maturation, l'on a des Ag. de classe de différenciation: **CD**

**3.1/- Les Lymphocytes T** : on y peut faire plusieurs classifications :

a/ - En fonction des critères de marqueurs de surface CD

- **LT=CD3+** → \* **CD4+** = **LT4** \* **CD8+** = **LT8**      - **LB= CD19+** -**LNTNB** (CD3-) (CD19- )

b/ - En regardant la fonction en distingue trois (3) possibilités de **LT**

\* **L.T. Régulateurs**: assure Hémostase → **LT4** Amplificateur **Helper CD4+** /**LT8** Suppresseur **CD8+**

\* **L.T. Effecteurs (CD 8+)** : dotés d'une action par cytolysse par les **LT8** ou production des cytokines

\* **L.T. Mémoires** : qui sont responsables de la réponse secondaire

**3.2./ - Les Lymphocytes B.** : qui activent les Plasmocytes pour la production d'Anticorps

**3.3/ - Les Lympho non T non B.**: dotés d'une action sur le phénomène non spécifique

**ADCC** = Cytotoxicité Cellulaire Dependante de l'Ag

\*\* **PS**: à côté des Leucocytes, il y a des cellules qui jouent un rôle accessoire au cours de la R.I.:

\* Les Plaquettes qui interviennent au cours des phénomènes inflammatoires

\* Les Mastocytes équivalents tissulaires des PNB qui rentrent dans l'immunité anti-parasitaire; et les phénomènes allergiques

\* Les CPA: cell. présentant l'Ag aux LT: cell. dendritiques / folliculaires

### -B/- FACTEURS HUMORAUX : Immunoglobulines, Complément, Cytokines

1/ - **Les Immunoglobulines ( Ig ) avec 5 classes ou isotypes A,D,E,G et M:**

Ce sont des GlycoProtéines produites par les Plasmocytes et qui interviennent au cours de R.I.

2/ - **Complément** : Système d'une vingtaine de protéines activées par voie classique ou alterne intervenant dans une cascade de réactions caractéristiques: Complexe d'Attaque Membranaire (**C.M.A.**)

3/ - **Cytokines**: qui assurent les liaisons de différentes cellules (**Interféron IFN** : substance antivirale; **Interleukines IL** petites molécules qui rentrent dans la communication intercellulaire = facteur de croissance; **TNF** = Facteur de Nécrose Tumorale: substance antitumorale)

**CONCLUSION**: Le Système Immunitaire est composé d'éléments humoraux et cellulaires qui interviennent au cours d'une dynamique réactionnelle appelée «R. I.» C'est le support de l'immunité qui permet à l'organisme de maintenir l'intégrité du soi en détruisant tout élément étranger

\*\*\* A.D.K.      07/04 \*\*\*      \*\* ADK 06/03    05/02/    \*\*

## LES FACTEURS DE L'IMMUNITE

### - INTRODUCTION

L'Immunité correspond à la fonction physiologique d'un être vivant lui permettant de développer des moyens de défenses naturelles ou acquises contre un agent pathogène pour arriver à cette défense dénommée «Reponse Immunitaire: **R.I.**». Des facteurs sont nécessaires : facteurs cellulaires et facteurs humoraux qui interagissent pour assurer l'intégrité de l'individu.

Le Système Immunitaire : **S.I.** est l'ensemble de moyens de défense de l'organisme contre les agressions étrangères: *le Non Soi*, composé de facteurs humoraux et cellulaires et, constitué d'organes et de cellules.

### I/ - LES FACTEURS CELLULAIRES

#### A/ - Les Lymphocytes T: L T

Les Lymphocytes T représentent 70% des L. totaux, issus des CFU-L : cellules souches lymphoïdes de moelle osseuse. Ils se différencient dans le Tymus et, migrent vers les autres organes du SI : ganglions, rate ...

##### 1/ - Récepteurs à l'Ag des L T

Le L T est muni d'un récepteur : *T. Cell Receptor (TCR)* qui permet la reconnaissance du peptide antigénique associé aux molécule **CMH** ( *Complexe Majeur d'Histocompatibilité*). Il est toujours associé à un complexe moléculaire transducteur **CD3**. Le TCR existe sous deux (2) types: des TCR alpha et,bêta chez **90-95%** des LT et, des TCR gamma , lamda chez 5-10% des LT.

Le LT outre le TCR et CD3 porte une molécule accessoire spécifique: le CD4 dans les 2/3 des LT ou le CD8. La molécule CD4 présente sur les LT va fournir le **LT CD4+** et reconnaît le domaine constant bêta 2 du CMH2. La molécule CD8+ va fournir le **LT CD8+** qui reconnaît le domaine alpha du CMH1. Les 5-10% des LT qui sont TCR gamma et lamda sont plus fréquents dans les muqueuses : ce sont les L. intraépithéliaux

##### 2/ - Formes des LT

###### a/ - LT Auxilliaires = LT Helper (Th)

Ils orientent la réponse immunitaire vers une réponse humorale ou cellulaire, ce sont les LT TCR alpha, bêta, **CD4+** qui sont divisés en deux (2) sous populations:

\* **Th 1** → R. cellulaire avec IL2/IFN gamma \* **Th2** → R. humorale avec les IL4, IL5, IL10

**b/- LT Cytotoxique = LTc=Tc= CTL** Ce sont essentiellement les **CD8+** Les TC **CD8+** peuvent lyser toutes les cellules de l'organisme dotées d'un CMH1, qui sont des cellules étrangères ou contaminées

###### c/ - LT Suppresseurs = Ts

Ce sont des CD8+ qui previennent ou arrêtent la R. I. en bloquant ou diminuant l'activité des autres cellules immunitaires.

#### B/- Les Lymphocytes B

Ils activent les Plasmocytes pour la production des anticorps (Ac). Ils representent 5-15% des L. du sang et dont le rôle essentiel est la synthèse d'**Ac**; les LB possèdent sur leur membrane des immunoglobines (**Ig**) qui sont associées: Ig alpha et bêta : Ig de surface qui jouent le rôle de récepteur à l'Ag ou **BCR** ( B. Cell. Receptor ) adaptée à la reconnaissance des Ag thymo independants

\*\* Le Plasmocyte fournit des dérivés de LB activé qui sécrète des Ac et, qui peuvent présenter l'Ag aux LT.

**C/ - Les Cellules Natural Killer : NK**

Ce sont des cellules tueuses naturelles qui représentent 5-15% des L. totaux du sang circulant, elles sont d'origine médullaire, ne possèdent ni TCR, ni BCR. Elles sont caractérisées par un «pouvoir cytotoxique sans immunisation préalable»

Ce sont des L. Non T, Non B qui sont CD3-, CD19-, CD 16+, CD56+, elles lysent les cellules de l'organisme sans ou dépourvu de CMH1, et sont capables de tuer certaines cellules tumorales et infectées par des virus.

**D/ - Les Cellules Dendritiques : DC**

Ce sont des cellules non leucocytaires n'appartenant pas à la lignée sanguine; des cellules de l'immunité naturelle ou innée ne pouvant donc pas déclencher une réaction inflammatoire. Elles appartiennent aux cellules présentant l'Ag : CPAg ; présentent dans les tissus. Ce sont des cellules de Langerhans, des cellules interdigitantes du ganglion qui expriment des molécules HLAII à leur surface; elles sont dépourvues de formes phagocytaires.

**-II/- FACTEURS HUMORAUX : Immunoglobulines, Complément, Cytokines****1/ - Les Immunoglobulines ( Ig ) avec 5 classes ou isotypes A,D,E,G et M:**

Ce sont des GlycoProtéines produites par les Plasmocytes et qui interviennent au cours de R.I.

**2/ - Complément :** Système d'une vingtaine de protéines activées par voie classique ou alterne intervenant dans une cascade de réactions caractéristiques: Complexe d'Attaque Membranaire (C.M.A.)

**3/ - Cytokines:** qui assurent les liaisons de différentes cellules (Interféron **IFN** : substance antivirale; Interleukines **IL** petites molécules qui rentrent dans la communication intercellulaire = facteur de croissance; **TNF** = Facteur de Nécrose Tumorale: substance antitumorale).

**CONCLUSION**

Le Système Immunitaire est composé d'éléments humoraux et cellulaires qui interviennent au cours d'une dynamique réactionnelle appelée «R. I.» C'est le support de l'immunité qui permet à l'organisme de maintenir l'intégrité du soi en détruisant tout élément étranger

**\* OBJECTIFS :**

**\* Objectif Général :** - Connaître les facteurs

**\* Obj. Spécifiques. :** - Citer les «cellules de l'immunité» et les décrire  
- Définir la «cytokine» et les classer selon leur forme

**\*\* QUESTIONS \*\***

- Décrire les différents mécanismes de reconnaissance des cellules de l'immunité.

- Citer les InterLeukines

- Origines et effets qui interviennent dans l'activation des « cellules de l'induction ».

\*\*\* A.D.K. 07/04 \*\*\* \*\* ADK 06/03 05/02/ \*\*

## **REPONSE IMMUNITAIRE A MEDIATION CELLULAIRE**

### **A/ - GENERALITES : INTRODUCTION**

C'est l'ensemble de réactions équilibrées utilisées par l'organisme pour éliminer l'antigène (**Ag**): le «*Non Soi*» lorsque ce dernier a franchi les barrières naturelles: peau, acidité gastrique et vaginale...Cet Ag peut être: un agent infectieux, une bactérie, une cellule étrangère (lors des greffes), une cellule défectueuse ou altérée de l'organisme ou, une cellule affectée par un virus ou, cellule non fonctionnelle.

On distingue différents types de «Reponse Immunitaire:**R.I.**» selon la spécificité et les acteurs; elle se déroule en trois (3) phases: la phase d'induction; la phase effectrice et, celle de révélation

### **I/ - LA PHASE D'INDUCTION**

Elle consiste à communiquer aux cellules de l'immunité, les informations de la présence d'un «**Ag**» puis, à réaliser leur «activation» en vue de les rendre prêtes à la phase effectrice.

Elle est donc est l'étape d'initiation qui, commence par la reconnaissance de l'**Ag** par les cellules de l'immunité et s'achève par leur activation.

#### **A/ - Induction de la R.I. chez les Lymphocytes T: LT**

La reconnaissance de l'**Ag**, par le **L.T.** se fait grâce aux **TCR**, reconnaissance unique des **Ag Thymodépendants** et, toujours associé à une molécule **HLA** du soi (de l'organisme). En dehors des cellules du soi altérées, le **L.T.** ne reconnaît que l'**Ag** que s'il est porté une cellule présentant l'**Ag**: **C.P.A.**

Les **LT4** reconnaissent les «**exoantigènes**» liés au **HLA** de classe **II**, l'**Ag** lui est présenté par des cellules spécialisées **CPA**: Cellule Présentatrice de l'**Ag**, qui sont en général: les cellules infectées, monocytes, macrocytes, cellules dendritiques, cellules de Langerhans L.B.

Les **LT8** plutôt les «**endoantigènes**» sont associés aux **HLA I** quelque soit l'**Ag**. la reconnaissance n'a lieu que s'il est associé à une **HLA** coexprimée par la **CPA** et le **LT**: c'est le «*Phénomène de restriction allogénique ou syngénique*».

Le contact **CPA** et **LT** est indispensable à la reconnaissance de l'**Ag**. il s'établit grâce à des interactions des molécules de surface qui font intervenir le **TCR** et d'autres molécules de surface dont le rôle est démontré par certaines expériences.

#### **\* Schema : Interactions CPA-LT \*\*\***

Le **CD4** ou **CD8** se fixe à la partie constante des molécules **HLA**, la reconnaissance de l'**Ag** n'est pas suffisante pour assurer l'activation des **LT** qui ont besoin, d'un signal d'activation ayant deux (2) origines :

1/ → Le Signal trans-membranaire est produit essentiellement au niveau du **CD3** et, accessoirement au niveau des **CD2,CD4** ou **CD8**, il est transmis aux cellules par l'intermédiaire de la «protéine **G**»

2/ → L'Action de l'**IL 1** et **IL 6** produites par les macrophages.

Ce double signal induit l'expression à la surface des **LT**, des molécules d'activation :

**CD 38, HLA II**, et les récepteurs pour **IL2** à haute efficacité. Si le **LT** est au repos, il n'y a pas de **HLA II, CD 38** et **RIL 2** mais, une fois activé cela induit la production de certaines substances: **IL2, IL4, IFN gamma, IL7** qui vont entariner la prolifération des **LT** et leurs différenciations en sous populations : **LT Effecteurs, LT Régulateurs** et, **LT Mémoires**.

**\* Schéma : Différenciation des LT**

- **LT8 Activé** → \* LT Suppresseur \* LT Cytotoxique \* LT producteur de Lymphokine
- **LT4 Activé** == IL2 IL4 INF g IL7 → LT producteur de Lymphokine \* LT Helper \* LT Mémoire

**B/ - Induction de la R.I. chez les Phagocytes**

Les «cellules phagocytaires»: granulocytes, monocytes, macrophages ainsi que, les cellules de la 3<sup>ème</sup> population lymphocytaire reconnaissent de façon non spécifique l'Ag. grâce à leurs fragments « **Fc des Ig** » et le récepteur pour certaines fractions du complément (C').

Pour la reconnaissance, il faut que l'Ag soit recouvert des ligands de ces récepteurs. Chez les phagocytes le signal antigénique est activateur Cf : Schema

**II/ - LA PHASE EFFECTRICE DE LA R.I. A MEDIATION CELLULAIRE**

**A/ - LA PHAGOCYTOSE : action des cellules phagocytaires \*\* Schéma A**

La phagocytose se fait par les PN et les Macrophages, elle se déroule en 4 étapes :

\* Chimiotactisme (opsonisation) \* Adhésion RFcIg / CR \* Englobement \* Digestion

**1/ - Chimiotactisme** : c'est l'afflux : mouvement par diapédèse des cellules phagocytaires vers l'Ag. sous l'action des facteurs chimiotactiques: **C3a, C5a, LPS** : LipoPolySaccharide bactérien. C'est une étape non indispensable mais, elle augmente le rendement de la phagocytose.

**2/ - Adhésion** : c'est le contact entre les cellules phagocytaires et l'Ag. recouvert «d'opsonines» qui sont des récepteurs sur les cellules phagocytaires «**C 3b**»: (Ig M, IgG == > RFcIg) == > CR 1

**3/ - Englobement** : La cellule phagocytaire émet des «prolongements membranaires» pour faire entrer l'Ag. dans une vacuole de phagocytose appelée: «**phagosomes**»

**4/ - Digestion : par les Lysosomes** , elles se lient aux phagosomes pour former le «phagolysosome». Les inclusions seront déversées dans les phagosomes pour détruire l'Ag. Elles contiennent des substances toxiques: dérivés oxygénés (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), Lactoferrinehydrolase, Estérase.

**\*\* PS** : Il Existe une différence entre la phagocytose des Polynucléaires et, des Macrophages

- **Phagocytose des PN** : c'est une phagocytose totale de l'Ag qui est violente et peut entrainer parfois la mort pour la cellule et, la transformer en pyocytes et pus.

- **Phagocytose Macrophages** : c'est une dégradation à 90%, les 10 autres restants forment un concentré d'épitope antigénique complexé aux **HLA** du Soi afin de présenter l'Ag. aux **LT** : c'est le phénomène de «**processing**».

**B/ - Action des Lymphocytes T Cytotoxiques : CTL**

Les LT Effecteurs sont appelés LT Cytotoxiques ou **CTL** : 90% sont des **LT8** et 10% des **LT4** . Leur cytotoxicité s'exerce selon deux (2) mécanismes : la cytolyse directe et la production de lymphotoxines

**B.1 / - La Cytolyse directe autonome : Perforine/ Fragmentine / Esterase**

Le **LT** se lie à l'Ag grâce à son **TCR** et la molécule de surface par une liaison spécifique. Après la liaison spécifique à l'Ag , les LT Cytotoxiques au niveau de la zone de contact vont libérer le contenu de leurs granules: la Perforine, la Fragmentine et, l'Estérase qui induisent la fragmentation de l'ADN et une lyse osmotique. Elle fait intervenir les LT Mémoires.

**B. 2 /- Production de Lymphotoxine / Facteur de Nécrose Tumorale bêta ( TNFb )**

- **Le TNF bêta** : est doté d'une action «antitumorale non spécifique et tardive»
- **L' IFN gamma** : est doté d'une action «pécifique aux virus »

**C/ - Phénomène ADCC : cytotoxicité cellulaire dépendante de l'anticorps**

C'est le mécanisme d'action des cellules de la 3<sup>ème</sup> génération ou 3 ème population lymphocytaire: **K ,NK, LAK**. Le mécanisme est semblable à la cytolysse directe autonome, la principale différence est que les cellules **K** et **NK** reconnaissent l'**Ag**, par leur recepteur pour le facteur **Fc des Ig**.

Ces cellules ont une action spécifique de l'Ag et, sont efficaces sur les cellules tumorales

**III/ - MEMOIRE IMMUNOLOGIQUE ET CONCLUSION**

Lorsque la stimulation de l'**Ag**, diminue, il y a une génération de Lymphocytes Mémoires essentiellement des **LTM** qui sont responsables de la «**réponse anamnétique**» : réponse secondaire (les LBM ayant une courte durée de vie). Cette mémoire immunologique est l'un des fondements de la «vaccination».

- Le 1 er contact avec l'Ag 1 va induire l'activation des LT1,LG1,Phagocytes, NK  
Celle des LT1 est la plus puissante mais, elle parvient tardivement au cours de la réaction primaire, après l'apparition des LTM

- Le 2 ème contact va induire une réaction secondaire plus rapide et, intense : ceci due à la présence des LTM, c'est le concept des vaccins

La phase effectrice est l'étape de la réponse immunitaire où interviennent les facteurs humoraux et cellulaires en vue de la destruction de l'Ag.

Au cours de cette étape, les facteurs ayant une action non spécifique sont les premiers à intervenir.

\*\*\* ADK 07/04 ADK 07/03 \*\*\*

## LA REPOSE IMMUNITAIRE HUMORALE

### INTRODUCTION

C'est l'étape de la «reponse immunitaire: **R.I.**» au cours de laquelle les différents éléments du système immunitaire vont déployer leur action. C'est l'action jouée par les facteurs humoraux de l'antigène (Ag.) que sont: **les immunoglobulines, le complément, les cytokines**

### I/ - LES ANTIGENES INDUISANTS UNE R.I. A MEDIATION HUMORALE

#### 1/ - Nature des antigènes : Ag

Ce sont les polysides, les protéines, les substances synthétiques et rarement des lipides et acides nucléiques. Les «allergènes» conduisent à une réponse immunitaire secondaire avec les **Ig E** (Ig MADGE). Les Polyosides induisent une R.I. Thymoindépendante avec seulement les **LB**

#### 2/ - Voie d'introduction

L'introduction de l'Ag par les voies sous cutanée, intramusculaire (IM), intraveineuse (IV) est apte à induire une R.I. humorale. L'administration par la voie orale (peros) donne surtout une réponse faite **d'Ig. A** sécretoire mais aussi, une tolérance immunitaire.

### II/ - MECANISME

Les cellules qui interviennent dans ce mécanisme sont les macrophages, les cellules ganglionnaires, les plasmocytes (Ig), les LB...et les CPA

\* CPA == IL 1,6 ==> LB \* CPA == IL 1,6 ==> LTH2 \* LTH2 == IL2,4,5,6,10,13 ==> LB

### A/ - LA PHASE D'INDUCTION

#### 1/ - Reconnaissance de l'antigène (Ag) par les Lymphocytes B

Les LB reconnaissent de façon spécifique les **Ag.** grâce au **BCR** par les **CR:** Cell. Receptor. Il s'agit d'une «Ig de surface»: **Ig M** ou **Ig D.** Accessoirement de façon non spécifique le **LB** peut reconnaître l'**Ag** par les récepteurs pour les fractions du complément **CR** ou, les récepteurs de fragment **Fc** des **Ig.** Après avoir reconnu l'Ag; le **LB** va internaliser et, les Ig de surface vont transduire le signal antigénique mais, le **LB** reste encore inactif car il doit être stimulé par certaines substances telles que les cytokines.

#### 2/ - Activation des LB

##### 2.A/ - Cas des antigènes (Ag) thymo-dépendants ( Ag. Protéiques )

**a/** - Facteurs de stimulation du L.B. (**BSF**): **IL 1** et **IL 4**, ils induisent l'amplification du signal antigénique. \* **IL 1** <== Macrophages \* **IL 4** <== LT Helper de type 2, LT CD4

**b/** - Facteurs de croissance du L.B. (**BCGF**): \* **IL 2, IL4, IL5** <== LT. Helper 2  
Ils vont induire l'expansion clonale des **LB** et la communication des gènes vers la synthèse d'autres classes particulières d' immunoglobulines: c'est la phénomène de «**Switch**»

##### c/ - Facteurs de différenciation des L.B. (BCDF):

\* **IL 4, IL5, IL6** <== LTH 2 \* **IFN G** <== Macrophages. Ces substances vont induire la différenciation des **LB** en **Plasmocytes** ou, en **Lymphocytes B Mémoire.** Cette activation des **LB** témoigne une véritable coopération cellulaire des LB / LT et des LB / Macrophages.

La coopération LB et LT n'existe pas pour les Ag Thymo-Indépendants d'où pas d'activation

##### \* Schéma : Reconnaissance de l'Ag par LB

LB et Ag == Cross-Link: Pontage BCR == > Phase de Capping == Internalisation == > Ag dans LB

\* **Schéma : Activation du LB : prolifération et différenciation**

LB au repos et Ag == BSF (IL1,4) == > Stimulation == BCGF (IL 2,4,5) == > Prolifération.  
+ Switch == BCDF (IL 4,5,6, INF G) → Différenciation: Plasmocyte par LB Mémoire.

**2.B / - Cas des antigènes (Ag) thymo-indépendants**

Les LT n'interviennent pas dans ce type de mécanisme donc, il n'y a pas de synthèse de cytokines d'où pas d'activation des LB. Seule peut subsister une coopération entre les Macrophages et les LB qui va entraîner une réponse d'anticorps (Ac) de faible densité avec la présence exclusive d'Ig M et sans mémoire immunologique. Le LB peut être directement activé par pontage entre des Ig. de surface qui vont induire une redistribution des Ig membranaires

**3/ - Induction de la R.I. par les autres Cellules**

Les cellules Lymphocytotoxiques et L Non T et Non B reconnaissent de façon non spécifique l'Ag. préalablement recouvert d'Ac ou de fraction du complément. Ces cellules possèdent des récepteurs pour le fragment Fc des Ig et, les récepteurs pour le complément

Le signal antigénique est aussi le signal d'activation, l'on n'a pas de prolifération cellulaire mais, les cellules activées mettent en marche leurs fonctions effectrices qui vont induire: la destruction de l'Ag.

Les cellules Lymphocytaires Non T /Non B == > cellules Killer et les Natural Killer (NK)

**4/ - Conclusion de la phase d'induction**

La phase d'induction est une étape indispensable de la R.I. car, elle l'oriente et détermine son efficacité. Grâce à leur récepteur spécifique pour l'Ag., les LB et LT après **activation** seront responsables de «l'immunité adaptative».

Les **Phagocytes** et les **cellules NK** par leur activation non spécifique de l'Ag. seront responsables de «l'immunité naturelle».

**B/ - PHASE EFFECTRICE DE LA RI A MEDIATION HUMORALE :**

La réponse à médiation humorale est réalisée avec les différents facteurs humoraux

**1/ - LES IMMUNOGLOBULINES ( Ig ): dotés d'une action spécifique de l'Ag**

**1. a/ - La synthèse ou la production des Ig**

Les Glycoprotéines sont produites par les «Plasmocytes» suivant le schéma général classique de synthèse des protéines; suivant une cinétique en quatre (4) phases :

- la phase de latence: qui correspond en fait à la phase de reconnaissance
- la phase de croissance: qui est le début de production et qui, augmente en fonction de la stimulation antigénique
- la phase de plateau: qui représente la phase de stabilisation relative
- la phase de décroissance: lorsque la stimulation antigénique diminue ( dim. du taux des Ig)

\* **Schéma : Cinétique de la production d'anticorps (Ac)**

**1. b/ - Les aspects qualitatifs et quantitatifs**

La nature de l'Ag. influence les aspects qualitatifs et quantitatifs de la production des Ig.

**Ex :** Quand l'Ag est un helminthe, l'on a la production **Ig E**; en cas d'une allergie l'Ag. est un allergène qui induit l' Ig. E. Les Ag portants atteinte aux muqueuses intestinales produisent l'**Ig A**

La réponse des anticorps issus des Ag. thymo-dépendants est différente de celle des Ag thymo-indépendants. Au niveau quantitatif on distingue : la réponse anticorps primaire qui fait suite à un premier contact entre l'Ag et l'organisme et, la réponse anticorps secondaire qui fait suite à un contact ultérieur. La synthèse des Ig est influencée par la nature de l'Ag.

**a/ - Antigène (Ag.) thymo-indépendants : LPS de la paroi des bactéries**

La réponse Ag-Ac obtenu est «faible et plus précoce», elle n'attend pas que les **LT** soient stimulés par les Ac. et, elle produit uniquement des **Ig M**.

Au niveau de la réponse secondaire, elle est identique à la primaire ceci lié à l'absence de coopération LT-LB indispensable à la génération de LT Mémoire et au phénomène de Switch

**b/ - Antigène (Ag.) thymo-dépendants :**

La réponse est semblable à la R.I. primaire avec les **Ig.M** prédominants mais en plus, d'autres classes d'Ig peuvent être produites selon la nature de l'Ag.

Par exemple dans le cas d'un «ver ou helminthe», l'on a la production d'**Ig.E**. La réponse secondaire est «précoce et plus intense» que celle de la réponse primaire. De plus les **Ac** produits ont une affinité plus grande pour les **Ag** et, sont de classe variable avec plusieurs **Ig. G**: signe d'une infection chronique et qui caractérise la «réaction anamnétique»

**PS :** cette réaction anamnétique a des applications dans le serodiagnostic des infections les **Ig M** sont marqueurs d'une «infection aigue», alors que les **IgG** sont des signes «d'inf. chronique»  
La Seroconversion: on en parle quand le taux d'**Ac** obtenu plus de 15 j. après est supérieur à «2»

**\* Courbe des réponses primaires et réponses anamnestiques: - Ig M / - Ig G****1. c/ - Rôles physiologiques des anticorps (Ac): liaisons Ag.- Ac.**

Les **Ac.** vont se lier de façon spécifique aux **Ag** pour former l'immuno-complexe qui a plusieurs devenir :

**a/ - la neutralisation** de l'**Ag.** :avec par exemple l'inhibition de la mobilité par Ac Anti-H des bactéries flagellaires de type *Salmonella*

On peut avoir également une inhibition de la diffusion; une inhibition de la toxicité ...

**a/ - l'activation du complément** avec un complexe d'attaque membranaire et des fractions actives

**c/ - l'opsonisation** qui favorise l'adhésion entre les cellules phagocytaires et l'Ag.

**d/ - l'induction de la cytotoxicité** cellulaire dépendante de l'Ac. (**ADCC**)

**2/ - LE COMPLEMENT:**

Le complement est doté d'une action non spécifique. Son activation se fait soit par voie classique, soit par voie alterne et elle aboutit à :

- **la production** du «**CAM**» : complexe d'attaque membranaire et, à certaines fractions actives qui induisent une action effectrice du complement dans la réaction inflammatoire

- Ex : Cytolyse par le CAM qui s'intercale dans la membrane et entraîne des pores

- **l'amplification de la phagocytose** par les facteurs chimiotactiques (**C3a,5a, Ba**) et les «opsonines» (**C3b et C4b**).

- **l'action proinflammatoire** par l'anaphylatoxine (**C4a**) et la Kinine Like (**C2b**)

- au métabolisme des immuno-complexes

**3/ - LES CYTOKININES:**

Elles sont dotées d'une action non spécifique qui intervient dans la phase effectrice. C'est une grande famille de substances à actions biologiques variées au cours des différentes phases de réponse immunitaire, dans la phase effectrice.

**3.1/ - Les Interférons :** IFN alpha, bêta < == Macrophages / INF gamma < ==

Lymphocytes T : Ils sont doté d'une **action anti-virale** : inhibe la réplication, amplifient et stimulent les Macrophages ainsi que les cellules NK.

- 3.2./ - Le TNF** : qui correspond au facteur de nécrosant des tumeurs
- Le TNF alpha est issu des Macrophages et produit de la «cachectine» qui est doté d'un effet anti-tumoral dans les infections à HIV avec une fonte musculaire et un amaigrissement.
  - Le TNF bêta est issu des Lymphocytes T et, est doté d'action cytotoxique.

### **III/ - REGULATION DE LA R.I. HUMORALE ( Cf : chapitre suivant )**

## **IV/ - EXPLORATION ET IMPLICATION DE L'IMMUNITE HUMORALE**

### **IV. A./ - EXPLORATION**

#### **A.1./ - Tests Quantitatifs**

##### **- Numération des Lymphocytes B :**

- Réalisation d'une NFS : Numération Formule Sanguine qui fournit le nombre de L/mm<sup>3</sup>
- Cytométrie de flux utilisant le CD19 et 20 pour déterminer le pourcentage de LB
  - \* Valeur normale: 200-400 LB/mm<sup>3</sup>

##### **- Dosage et Détection des Immunoglobines (Ig.)**

- \* Dosage Ponderal par Nephelométrie (IgG, IgA, IgM)
- \* D. RadioImmunoEnzymologie. Test Elisa **Ig E** ( pheno. allergique) et ss classe **Ig G**
- \* Dosage des Protides par Electrophorèse
- \* Détermination des Ig. monoclonaux par ImmunoElectrophorèse ImmunoFixation

##### **- Dosage du Complement**

#### **A.2./ - Tests Qualitatifs**

- Test de prolifération ou de transformation lymphoblastique par Poke Weed Mitogen : «PWM»
- Test de production d'**Ig** : après activation par PWM, Dosage des **Ig** dans le surnageant
- Dosage des **Ac** après vaccinaion à 15 jours d'intervalle

### **IV. B/ - IMPLICATIONS EN IMMUNOPATHOLOGIE**

En Pathologie infectieuse, l'immunité humorale peut être transférée au moyen de serum ou les gamma Globulines de sujets immuns, la notion de la régulation de l'immunité humorale sert de base à la stratégie de « vaccination ».

Le Diagnostic de différentes affections bactériennes et virales ont pu être mis en place, grace à la maitrise de la R.I. humorale. En Immunopathologie on utilise des **Ig G** AntiRhésus pour prévenir les Alloimmunisations maternofoetales

\*\*\* ADK 08/04 A.D.K. 04/07/03 04/05/02 \*\*\*

## **REGULATION DE LA REPOSE IMMUNITAIRE**

### **INTRODUCTION**

A l'image d'autres systèmes biologiques (coagulation) le fonctionnement du S.I. est soumis à une régulation pour maintenir un équilibre et qui fait intervenir différents facteurs : antigènes (Ag), Anticorps (Ac), LT, Cytokines ...

### **I/ - REGULATION EXERCEE PAR L'ANTIGENE ( Ag.)**

- A./ - La Voie d'administration et de la Nature de l'Ag.
- B./ - La Persistance de l'Ag.

### **II/ - REGULATION PAR L'ANTICORPS ( Ac.)**

#### **A/ Anti-Corps (Ac.) Spécifiques de l'Ag.**

1/ - 1<sup>er</sup> Mécanisme : Blocage de l'épitope antigénique par l'Ac

1.a. / - Au niveau des Ac. produits in Vivo

1.b. / - Au Niveau des Ac. produits Ex Vivo

2/ - 2<sup>ème</sup> Mécanisme : Pontage entre le BCR et l'Ig fixé sous le RFc-Ig.

#### **B/ Anti-Corps (Ac.) Anti-Idiotypes**

### **III / - REGULATION PAR LES LYMPHOCYTES T. ( LT )**

1/ - Les Lymphocytes T ( LT ) Helper : LTH 1 et LTH 2 ( amplificateur )

2/ - Les Lymphocytes T. Suppresseurs

### **IV / - REGULATION PAR LES CYTOQUINES**

#### **1/ - Les Facteurs Amplificateurs**

- Les Cytokines produites par les Macrophages : IL 1 , IL 6, IL8

- Les Cytokines produites par les LT. - Autres Facteurs

#### **2/ - Les Facteurs Suppresseurs**

- Les Fact. produits par les Macrophages - Les F. produits par les L. T. - Les autres

### **V / - AUTRES FACTEURS DE REGULATION**

#### **1/ - Régulation Neuro-Endocrine**

Régulation par le SN et le système endocrinien est complexe mais reel; ces systèmes produisent des substances: Stréroides, Enkephaline, Endorphine libérées au cours du «Stress» et qui ont une action immunosuppressive.

#### **2/ - Régulation Génétique : Gènes HLA,BCR, TCR, Complement**

### **CONCLUSION**

La régulation fait intervenir plusieurs facteurs permettant de faire face à une agression dans des proportions raisonnables. En absence de bonne régulation la R.I. peut être insuffisante (immunodéficience) ou exagérée (hypersensibilité) ou mal adaptée (autoimmunisation)

## REGULATION DE LA REPOSE IMMUNITAIRE

### INTRODUCTION

A l'image d'autres systèmes biologiques (coagulation) le fonctionnement du S.I. est soumis à une régulation pour maintenir un équilibre et qui fait intervenir différents facteurs : antigènes (Ag), Anticorps (Ac), LT, Cytokines ...

### I/ - REGULATION EXERCEE PAR L'ANTIGENE ( Ag.)

#### **1.a./ - La voie d'administration et de la nature de l'Ag.**

Elle détermine l'isotype de l'Ac produit et, l'existence d'une mémoire immunologique plus ou moins grande. C'est le cas par exemple du «vaccin oral Polio» qui induit la production d'Ig A responsable d'une immunité locale et aussi, celui de la réaction immunitaire vis à vis «d'Ag thymo-indépendant» qui produit seulement des Ig M et qui est sans lendemain

#### **1.b./ - La persistance de l'Ag.**

Elle induit une R.I. prolongée responsable de quelques pathologies \* Ex : splénomégalie; hépatomégalie lors des infections parasitaires telles que la Leishmaniose viscérale et le Paludisme

### II/ - REGULATION PAR LES ANTICORPS ( Ac.)

Ils peuvent exercer un rétrocontrôle sur la production

#### **II. A/ - Anti-corps (Ac.) spécifiques de l'Ag.= Ac de forte affinité**

En marge de leur action spécifique: destruction de l'Ag; les Ac peuvent inhiber la réponse immunitaire: RI par différents mécanismes.

##### **1/ - 1er Mécanisme : blocage des épitopes antigéniques par l'Ac**

1.a. / - Cas des Ac. produits ex vivo : il peuvent «inhiber la RI» Ex : Serum Anti-D (S. Rhésus) ==> Administration d'Ac Anti-D dans la prévention de la maladie hémolytique du nouveau né

1.b. / - Cas des Ac. produits in vivo : ils réalisent une «compétition» avec le BCR des LB Les LB dont le BCR qui a une plus grande affinité pour l'Ag seront activés

##### **2/ - 2ème Mécanisme : les Ac. facilitateurs = mécanisme d'échappement des tumeurs**

Le Pontage par l'Ag entre le BCR et l'Ig fixé sur le récepteur. Fragment Fc de l'Ig (RFc-Ig.) inhibe la transformation des LB en Plasmocytes Ex : Production d'Ac antitumoraux par immunocompétition avec les Ac. circulants

#### **II. B/ Anticorps (Ac.) anti-idiotypiques**

( PS : Schéma \* Serum anti *Salmonella. typhi* ==> réaction positive )

Les parties hypervariables des Ig peuvent constituer des Ag pouvant induire la production d'Ac anti-idiotypes, l'effet de ces Ac dépend de leur taux. Les premiers produits amplifient la RI car constituent l'image interne de l'Ag. Lorsque le taux augmente, ils ont un effet suppresseur (stimule les LT Suppresseurs ) blocage des TCR et BCR spécifique de l'Ag

### **III / - REGULATION PAR LES LYMPHOCYTES T. ( LT )**

Cette régulation est médiée par deux (2) types de LT: LT Helper et, LT Suppresseur  
Les LT ont un effet régulateur sur la RI par contact direct ou par l'intermédiaire des Lymphokines

#### **1/ - Les Lymphocytes T Helper: LTH 1 et LTH 2 ( amplificateur )**

Il a été mis en évidence deux (2) types de LT Helper : TH1 et TH2 dont l'activité oriente la R.I. vers un mécanisme effecteur cellulaire ou humoral selon la nature de la CPA ayant induit leur activation

\* Si la CPA est un LB, l'Ag est présenté aux **LT H 2** qui sont activés et, produisent les IL4,IL5,IL6 et IL10 qui interviennent dans la transformation du LB en Plasmocytes producteurs d'Ac, spécifique de la «réponse immunitaire humorale»

\* Si la CPA est un Macrophage ou un dérivé ou, une cellule du soi infectée par un virus, l'Ag est présenté aux **LT H 1** qui activés produisent les IL2 et IFN gamma qui génèrent les LT cytotoxiques, spécifique de la «réponse immunitaire cellulaire»

#### **2/ - Les Lymphocytes T Suppresseurs**

Ils diminuent la RI , en évitant par exemple son emballement. Ils agissent lors de la stimulation par des faibles ou fortes doses d'Ag. Leur mécanisme d'action est peu connu mais, l'on sait qu'ils agissent par contact direct ou, par production de certains facteurs humoraux.

### **IV / - REGULATION PAR LES CYTOKINES : F. humoraux non spécifiques**

#### **1/ - Les Facteurs Amplificateurs** \* PS : Réseau Cytokines controlant la RI

##### **a/- Les facteurs produits par les Monocytes et Macrophages: IL 1 , IL 6, IL8**

\* **IL 1** : il joue un rôle d'activation des Lymphocytes, augmente l'action des Monocytes, des Macrophages et cellules NK

\* **IL 6**: il rentre dans la différenciation des LB en Plasmocytes et, augmente la synthèse des protéines dans la phase aigue de la R.I.

\* **IL 8** : c'est le facteur chimiotactique pour les PNN

##### **b/ - Les facteurs cytokines produits par les LT**

\* **IL 2** : il induit la prolifération des LT et LB et, la différenciation des LT. Il augmente l'action des Macrophages et transforme les cellules NK en cellules LAK

\* **IL 3** et **GM-CSF** : ce sont les facteurs de croissance des lignées sanguines

\* **IL 4** et **IL 5** : ce sont les facteurs de prolifération et de différenciation des LB

\* **INF gamma** : il augmente l'expression des molécules HLA 1 et 2. Il active les Macrophages et, augmente la cytotoxicité des NK

##### **c/ - Les autres facteurs :**

\* **IL 7** : c'est le facteur de prolifération des LT et, qui augmente l'activité des Macrophages

#### **2/ - Les Facteurs Suppresseurs**

##### **a/-Les facteurs produits par les Monocytes et Macrophages: PGE 1,2; LTB4; IFN**

\* **PGE 1** et **PGE2** : ils activent les LT Suppresseurs et diminuent la synthèse des IL 1 et 2

\* **LT B 4** : il active les LT Supresseurs

\* **INF alpha et bêta**: inhibent l'expression des molécules HLA2 induit par l'INF gamma

##### **b/ - Les facteurs supresseurs produits par Les L T.**

\* **IL 4** et **IL 10** : ils diminuent la synthèse des IL 2, INF gamma et des Monokines

\* **INF gamme** : il diminue la production des Ig E

**c/ - Les autres** : Proteines de l'inflammation: CRP; alpha Globuline, haptoglobine

## **V/ - AUTRES FACTEURS DE REGULATION**

### **1/ - Régulation Neuro-Endocrine**

C'est la régulation par le système nerveux et le système endocrinien. Elle est complexe mais réelle; ces systèmes produisent des substances: Stréroïdes, Enkephaline, Endorphine libérées au cours d'un «Stress» et qui sont dotées d'une «action immuno-suppressive».

### **2/ - Régulation Génétique: Gènes HLA, BCR, TCR, Complement**

L'observation d'une variation de la susceptibilité aux infections dans une famille permet d'évoquer une régulation génétique, en effet certaines familles ne font pas la maladie tandis que d'autres la font... Les gènes de la régulation sont nombreux: **HLA**, gènes codant pour le **BCR** et **TRC**, pour les fractions du complement.

#### **2.1./ - Les Gènes du HLA :**

Ils sont marqué par deux rôles importants: l'éducation thymique et la présentation de l'Ag

**a/ - L'Education thymique :** elle assure la «sélection clonale positive» chez seulement les Thymocytes (10%) dont le TCR a une affinité pour le HLA du soi vont donner des LT. Elle est négative chez les Thymocytes à forte affinité pour les autoantigènes qui sont détruits

**b/ - Présentation de l'Ag :** les «endoantigènes» sont présentés aux LT 8 associés aux HLA de classe I et se transforment en LT cytotoxiques qui réalisent la cytotoxicité allo-restreinte. Les «exoantgènes» complexés aux HLA de classe II sont présentées aux LT 4 qui vont amplifier la R.I. par la production des Lymphokines ou par contact direct avec les autres cellules.

#### **2.2. / - Les Gènes codant pour le TCR et le BCR**

**2.3./ - Les Gènes codant pour les fractions du complément :** le déficit en **C 3** augmente la susceptibilité aux infections batériennes

## **CONCLUSION**

La « régulation » fait intervenir plusieurs facteurs permettant de faire face à une agression dans des proportions raisonnables. En absence de bonne régulation la R.I. peut être insuffisante (immunodéficience) ou exagérée (hypersensibilité) ou mal adaptée (autoimmunisation)

\*\*\* ADK 07/04 ADK 22/06/03 \*\*\*

# L' INFLAMMATION

## INTRODUCTION

L'inflammation est une réponse tissulaire généralement locale à une agression provoquée par un agent biologique infectieux, un agent chimique ou physique, caractérisée par l'apparition de chaleur, rougeur, tumeur, et de douleur...

C'est un phénomène immunologique et physiologique de défense de l'organisme, liée à une immunité et aboutissant à la réparation des tissus. Elle est généralement bénéfique car, elle rétablit l'homéostasie, fait intervenir des facteurs cellulaires et des médiateurs chimiques. Elle comprend trois (3) phases: la phase vasculaire, la phase cellulaire et la phase de réparation

## I/ - LES ETAPES DE L'INFLAMMATION

### A/ - LA PHASE VASCULAIRE : C'est une phase initiale ou exsudative

Elle est dominée par une modification au niveau des vaisseaux qui seront responsables des signes cardinaux : congestion, œdème inflammatoire, diapédèse et activation des plaquettes.

#### **1/ - La congestion**

Elle est marquée par une vasodilatation artériolaire, une diminution du flux ou courant circulatoire, une stase veineuse qui induit une augmentation de la quantité du sang au niveau du foyer inflammatoire. Il en résulte : la rougeur et la douleur

#### **2/ -L'apparition d'un oedème inflammatoire**

Parallèlement à la vasodilatation , il y a une vasoconstriction en aval du foyer inflammatoire qui entraîne une «exsudation plasmatique» vers les espaces extravasculaires. Elle induit un oedème accompagné de substances de haut poids moléculaire : *Albumine, Bradykinines, Fibrinogènes* dont l'action associée à l'hyperpression des terminaisons nerveuses induit la «douleur»

#### **3/ - La diapédèse et l'activation des plaquettes**

La modification vasculaire entraîne l'afflux des Leucocytes vers le foyer inflammatoire : c'est la «diapédèse» qui induit l'activation, l'adhésion et l'aggrégation des Plaquettes lors des lésions des cellules endothéliales vasculaires.

## B/ - LA PHASE CELLULAIRE

Elle est initiée par la «diapédèse» et marquée par deux phénomènes : le granulome et la détersion.

### **B. 1/ - La formation du granulome inflammatoire :**

Ce granulome est issu des cellules qui se retrouvent au foyer inflammatoire

#### **a/ - Les cellules phagocytaires** = 1 ères cellules qui arrivent au niveau du site inflammatoire

- \* **Monocytes** et **Macrophages**: responsables de la phagocytose: immunité innée + **IL 1 et 6, TNF alpha**
- \* **PNN** : responsables de la phagocytose mais qui pouvant se transformer en pyocytes, forment du pus
- \* **PNE** : quand l'inflammation est dûe à un parasite (un ver) ou, à un phénomène allergique
- \* **PNB** et leur équivalent tissulaire, les **Mastocytes** qui vont produire *l'Histamine* et des *Leucotriènes*

#### **b/ - Les Lymphocytes** : qui sont responsables de l'immunité spécifique

- \* Les **LT** produisent des «*Lymphokines*» qui vont amplifier les phases cellulaire et vasculaire.
- \* Les **LB** vont se transformer en Plasmocytes qui donnent des **Ac.** s'il existe un **Ag.** dans le foyer.
- \* Les **Fibroblastes** qui favorisent la production de tissu conjonctif qui interviennent dans la réconstitution tissulaire.

**c/ - Les autres cellules :**

- \* **Plaquettes** responsables de l'apparition des *Prostaglandines* et, des *Leucotriènes*
- \* **PNB et, Mastocytes** vont libérer l'*Histamine* et la *Sérotonine* qui sont responsables de la «réaction d'hypersensibilité et d'allergie».

**B. 2/ - La détersion :**

Les cellules phagocytaires vont débarrasser le site inflammatoire de toutes ses impuretés, C'est donc: l'élimination des cellules détruites par des agents pathogènes, les Macrophages et par le drainage lymphatique. Quand elles sont abondantes, il faut une détersion externe: une ouverture spontanée de la peau ou par chirurgie.

**C/ - LA PHASE DE REPARATION :** c'est la phase terminale ou de cicatrisation

**1/ - La restitution intégrale :** les cellules lésées sont remplacées par des cellules homologues, le phénomène disparaît sans laisser de traces particulières, c'est le cas du «furoncle»

**2/ - La cicatrisation :** c'est le remplacement des cellules altérées par les Fibroblastes qui vont fournir du *Collagène* et de la *Fibrose*. La cicatrisation survient quand les dégâts sont importants ou persistants et, quand les tissus ne peuvent pas être rejetés.

Ex : Au niveau du cœur, les Myofibroblastes fournissent des tissus cardiaques jeunes: c'est la fibrose

**II/ - LES MEDiateurs Chimiques de l'Inflammation**

C'est l'ensemble de substances produites par des cellules intervenant au cours de l'inflammation dont l'action équilibrée va éliminer l'agent pathogène, elles vont également faciliter la diapédèse et la lésion tissulaire.

**II. A/ - LES MEDiateurs d'Origine Cellulaire**

**1/ - Les amines vaso-actives :** histamine, sérotonine libérée par les Plaquettes, PNB, Mastocytes

- **Histamine :** dotée d'une action rapide qui induit une vasodilatation, une augmentation de la perméabilité membranaire des vaisseaux et la contraction des fibres musculaires lisses.

- **Sérotonine :** elle est issue des Mastocytes et des Plaquettes, elle est également responsable de la perméabilité des vaisseaux qui entraîne une vasoconstriction des veines.

Pendant la réaction allergique, l'allergène associé au IgE et l'immuno-complexe formé peut se fixer sur les PNB, Mastocytes et induire leur dégradation.

**2/ - Les dérivés des phospholipides membranaires: PG, LT, PAF :** trois (3) substances

\* ProstaGlandines (**PG**) \* LeucoTriènes (**LTr**) \* **PAF- Acether** (fact. d'activation des plaquettes )

- Les PG ont une action au niveau vasculaire avec, une augmentation de la perméabilité les LTr aussi, les LT B4 ont plutôt un rôle de facteur chimiotactique.

→ **PAF :** \* Augmente la perméabilité \* Action dans la diapédèse

\* Induction de l'aggrégation des Plaquettes

**PhosphoLipides** == PhosphoLipase A2 ==>

- LipoOxydase → \* **LTr B4 :** Facteur chimiotactique

\* **LTr C4 / D4 :** Bronchoconstriction°

→ **Ac Arachidonique**

- CycloOxydase → **PGL :** E2,I2,Tx A2 → Aug. perméabilité des vaisseaux , vasodilatation, fièvre

**3/ - Les Cytokines: IL 1, IL 6, TNF2 :** pyrogènes et endogènes inductrices de fièvre

Il s'agit de Lymphokines et Monokines issues des LT et Macrophages, elles fournissent l'IFN et les Interleukines

\* **IL 1 :** issue des Macrophages, dotée d'une action lymphocytaire et de prolifération des fibroblastes

\* **IL 6 :** induit la libération des protéines de la phase aigue.

**4/ - Les Substances Lysosomiales:** libérées par les cellules phagocytaires, on a les radicaux peroxydes, les radicaux libres oxygénés, les oxydes d'azote, les protéases ... elles sont responsable de la nécrose tissulaire.

## **II. B/ - LES MEDIATEURS D'ORIGINE PLASMATIQUE**

**1/ - Le système des kinines ( Ex Bradykinine )** il joue un rôle dans l'apparition de la douleur en phase initiale. Ce sont des substances constituées par les métabolites du Kininogène ( facteur de coagulation), intervenant au cours de la phase initiale en augmentant la perméabilité vasculaire, en induisant la diapédèse et la vasodilatation.

**2/ - Le système du complément :** il permet l'apparition du complexe d'attaque membranaire (CAM) et des fractions actives. L'immunocomplexe d'Ig.A, d'endotoxine bactérienne, de plasmine ect ... peuvent déclencher la cascade d'activation du complément pour donner des facteurs intervenants au cours de l'inflammation.

**3/ - Le système de la coagulation :** c'est le facteur 12 et le système Fibrinogène-Fibrine qui sont activés par le système endogène lié à la lésion vasculaire, au cours de l'inflammation: «l'hémostase» sera alors déclenchée.

**4/ - Les protéines de la phase aiguë de l'inflammation (PPA) :** indicateurs biochimiques de l'inflammation. C'est un groupe de «7» substances produites par le foie dont le taux augmente au cours de la réponse inflammatoire et, qui agissent dans la régénération tissulaire :

- \* Pr. C. Réactives (C.R.P) : facteur le plus utilisé surtout chez les enfants
- \* alpha 1 -AntiTrypsine      \* alpha 1 AntiChymotrypsine      \* Fibrinogène \* CRP
- \* Lactoglobuline      \* Hepatoglobuline      \* Orosomucoïde      \* Ceruléoplasmine

## **III/ - INFLAMMATION AIGUE ET CHRONIQUE**

### **III. A/ - L'INFLAMMATION AIGUE**

#### **1/ - Les Stimuli de l'inflammation aigue:**

- \* Stimuli physiques : ultra-violet (uv), cristaux      \* Stimuli. chimiques : acides et bases
- \* Stimuli biologiques : bactéries Gram négatif (-), toxines des bactéries Gram positif (+)
- \* Stimuli immunologique : complexe Ag-Ac immuns

#### **2/ - Initiateurs moléculaires et cellulaires de l'inflammation aigue:**

Facteur XII, Fibrinogène, système du complément, PNB, Monocytes

#### **3/ - Médiateurs:**      \* Médiateurs préformés : histamine, sérotonine

\* Médiateurs s/f inactive : système Kininogène-Kinine, complément, PG, Leucotriènes

**4/ - Les cellules intervenant dans l'I.A.:** Plaquettes, Mastocytes, Phagocytes Polynuclés, Cellules endothéliales, Fibroblastes

### **CONCLUSION :**

L'Inflammation constitue un mécanisme essentiel pour la survie des tissus, elle est une réaction bénéfique pour l'organisme, elle permet de faire face à une agression tissulaire quelle qu'en soit la cause, elle ne peut pas être considérée comme un phénomène pathologique lorsqu'elle est circonscrite. Cependant, lorsque le phénomène est intense ou prolongé il peut aboutir à des conséquences pathologiques.

Exemple : une production exagérée des médiateurs peut aboutir à des phénomènes irréversibles par la destruction nerveuse observée au cours de la lépre, la cirrhose hépatique, les dégâts pulmonaires observés au cours de la tuberculose par la réaction granulomateuse

\*\*\*      ADK      04/07/04      ADK      22/06/03      05/07/03      ADK 30/06/02      \*\*\*

## L'IMMUNITE ANTI-INFECTIEUSE

### INTRODUCTION

La fonction majeure du S.I est la défense contre les agents infectieux ou Microbes qui peuvent être regroupés en cinq (5) classes du plus petit au plus gros : les Prions, Virus, Bactéries, Champignons et, les Parasites

Au cours de l'évolution, l'homme et les animaux ont développés des moyens de défense adaptés aux microorganismes, à l'inverse ceux-ci ont réussi à déterminer ces mécanismes avec une diversité des réactions individuelles, d'où l'intérêt de l'étude de ces mécanismes de défense contre les agents infectieux afin de préserver l'intégrité de l'espèce humaine. La R.I. développée par l'organisme suite aux agressions des Microorganismes peut être la cause de phénomène immunopathologique

### I/ - LES MECANISMES GENERAUX NATURELS (liés aux méca. de immu. naturelle)

#### I. A/ - Les Barrières Anato-mo-physiologiques

##### **1/ - La peau**

- La couche de Kératinocyte permet une résistance à la plupart des agents infectieux.
- Les Glandes sébacées et sudoripares fournissent des acides gras à action bactéricide
- Les cellules de Langerhans présentent l' Ag. aux LT H

##### **2/ - Les voies respiratoires:**

Elles permettent d'éliminer les particules de diamètre supérieur à 5 µm par le mucus et la toux, celles inférieures à 0,5 sont éliminées par l'expiration et, celle de taille intermédiaire seront éliminées par les Macrophages alvéolaires.

##### **3/ - Le tube digestif :**

La flore commensale a une action antibactérienne, les plaques de Peyer induisent une immunité spécifique.

#### I. B/ - Les Substances Humorales

**1/ - Le complément** : c'est le principal facteur de l'immunité naturelle humorale, il joue un rôle important dans le déclenchement de l'inflammation et de l'opsonisation des agents infectieux.

##### **2/ - Les cytokines et protéines de l'inflammation**

- **Interféron alpha** issus des Leucocytes et, l'**IFN bêta** bloquent la traduction des protéines virales et, stimulent l'expression des molécules du CMH 1 en favorisant la présentation des peptides antigéniques
- **IFN gamma** (NK, LT CD4+ ou LT CD8+ activés) stimule les Macrophages et les LT H 1
- Tumor Necros Factor : **TNF alpha et bêta** dotés d'activité identique à l'**IFN gamma**
- **Lysosyme** : Protéine dégradant certaines parois bactériennes.
- **Lactoférine** : capte le fer indispensable à croissance bactérienne

#### I.C/ - Les Cellules de l'Immunité Naturelle

##### **1/ - Cellules Phagocytaires :**

\* PNN agit sur les germes à développement extracellulaire \* Macrophages sur les intracellulaires

##### **2/ - Cellules NK** : cellules à pouvoir cytotoxique naturel

##### **3/ - Réponse Inflammatoire** : elle permet l'isolement du foyer infectieux

**4/ - Fièvre** : dotée d'un effet favorable sur le contrôle de l'infection, la température influence la courbe croissance microbienne, les microorganismes de l'homme sont des germes mésophiles se multipliant à une température optimale de 37°C au delà, l'on n'a pas de multiplication

**II/ - IMMUNITE ANTI-VIRALE** Elle est liée à la biologie et l'infectivité des virus

Il existe plusieurs virus pathogènes sont responsables des manifestations aiguës les plus connues, chroniques, et latentes ...

**II. 1/ - Réponse Humorale : \* Interferon et TNF \* Ag A \* Ig. M et G**

Dès l'introduction d'un virus dans une cellule, elle sécrète de l'IFN alpha et bêta et les cellules NK, l'IFN gamma: facteur de résistance aux virus. La cellule de l'organisme une fois infectée, la destruction par LTC spécifique est le moyen préférentiel de guérison. Les cellules NK peuvent les détruire si, elles sont déficientes en molécule du CMH

La production d'Ac. spécifique n'est efficace que sur les Virus libres, les Ac. assurent la protection en cas de réinfection. Les Virus à enveloppés : *Hespesvirus*, *Rétrovirus* peuvent être lysés par le complément et les cellules NK.

Les «**Prions**» sont des protéines infectueuses à l'origine de la maladie de Creutzfeldt-jacob, de Kuru, ... leur mécanisme de défense du S.I. n'est pas encore décrit, ce sont des agents intracellulaires à réplication lente et inexorable

\* **INF** induit l'inhibition de la multiplication virale, l'activation des NK, l'augmentation des HLA

\* **TNF** induit la mort de la cellule infectée par le virus

\* **Ag. A** : Ag. sécrétaires en cas infections cutanéomuqueuses

**II. 2/ - Réponse Cellulaire: \* LT Cytotoxiques: activation et production des Cytokines****II.3/ - Conséquences Immuno-Pathologiques: nefastes avec plusieurs exemples**

\* **Ex. 1.** : Glomerulonéphrite issue des dépôts d'immuno-complexe.

\* **Ex. 2** : Cytopenie: lyse des cellules du Non Soi, cas lyse cellules hépatique par l'Hépatite virale

\* **Ex 3** : Maladies Auto-Immunes provenant des Néo-antigènes

**III/ - IMMUNITE ANTI-BACTERIENNE :**

Elle est liée aux mécanismes invasifs et à la production des toxines

\* Barrière physico-chimique : acidité gastrique et vaginale

\* Barrière mécanique : périlstaltisme intestinal, ténésme \* Barrière écologique

- **Rappels:** Pathogénie très variable, de toxicité sans invasion à l'invasion sans toxicité

**A/ - Bactéries à développement extracellulaire**

La **phagocytose** par le **PNN** est le moyen de destruction idéal, induite par certaines molécules des bactéries reconnues par le PNN, par le complément activé soit par voie classique avec le lipide A des LPS : lipopolysaccharides, soit par la voie alterne.

L'immunité spécifique acquise, les Ac et la fixation secondaire du complément amplifient l'opsonisation des bactéries extracellulaires.

**B/ - Bactéries à développement intracellulaire** TNF alpha, bêta et IFN gamma +++.

La réponse immunitaire préférentielle est de type cellulaire grâce à la production des «**Cytokines**» par les **TNF alpha, bêta et IFN gamma**. Les Monocytes reconnaissent les LPS des bactéries et leur protéines de liaison. Les Macrophages munis de récepteurs spécifiques aux polysaccharides assurent l'activation des Monocytes et la destruction des bactéries intracellulaires.

L'échec de cette réponse va être à l'origine d'infection chronique avec des granulomes

**PS** : A côté l'on a le rôle des **LT gamma et delta** dans la défense des muqueuses en 1<sup>ère</sup> intention de celui des protéines du «Stress», le mécanisme est non connu.

L'immunité « antifongique » est comparable à celle des bactéries

- **Réponse Humorale:** Ac.Antitoxique Emp. diffusion / Antiflagelle Ag H... / Cpmlt → ADCC
- **Réponse Cellulaire:** LT cytotoxique et NK entraînent la phagocytose : voie très importante.

**C/ - Conséquences Immuno-Pathologiques:** ce sont des conséquences néfastes  
 Ex.1 Choc septique dans Septicémies / B.G (-) / act° LPS → Lib Cytokines → Fièvre/Collapsus  
 Ex. 2 : Phénomène de KOCH : Hypersensibilité retardée aux sites d'injection intradermique  
 (IDR) \* Granulomes tuberculeux par le test à la Tuberculine

#### IV/ - IMMUNITE ANTI-PARASITAIRE

Les Parasites sont de grande taille, se multipliant dans les cellules humaines; les Ag. sont fonction du stade évolutif. La Taxonomie subdivise les Parasites en Protozoaires: unicellulaires et, en Métazoaires: pluricellulaires

Les Protozoaires sont à développement intra ou extracellulaire, les Métazoaires vue leur grande taille sont extracellulaires

Les moyens de défense sont plus complexes en raison de leur taille et, leur cycle de développement passant par plusieurs stades différents avec une réponse de l'hôte spécifique du stade.

Les Antigènes (Ag.) sont nombreux et dotés d'une variabilité antigénique au cours de l'infection, les mécanismes de défense comprennent : \* la Phagocytose \* l'Opsonisation \* la Neutralisation par les Ac \* Production de LT Cytotoxique \* Réaction cellulaire par les Cytokines

##### **1/ - Cas des Protozoaires : ( Cf Phocopie )**

##### **2/ - Cas de certains Helminthes Ex : \* *Shistosoma mansoni* \* *Trichinella spiralis***

Les infections par les Helminthes sont associées à une «Hyperéosinophilie» due à la réaction du TNF alpha et IFN gamma, GMCSF et une augmentation de la concentration des **Ig E** sériques. Les PNE et Plaquettes libèrent des substances toxiques qui détruisent le parasite au prix d'une réaction inflammatoire

**Rép Hum** \* Ig E / Cpmlt \* Toxoplasmose IgM, Ig.G **R. Cell:** LTCyto / Phagocytes et C.NK / Macrophages

##### **3/ - Conséquences Immuno-Pathologiques**

Ex.1 : Hépatomégalie et splénomégalie dans le Paludisme, les Leshmanioses issues des cellules Immunitaires

Ex.2: Choc anaphylactique: rupture du kyste hydatique issu de certains Médiateurs, par les Mastocytes venant des Ig. E

#### - CONCLUSION

- La R.I. anti-infectieuse permet à l'organisme de se défendre devant toute infection, sa connaissance permet certaines applications au niveau diagnostique et même thérapeutique comme la production des vaccins.

- Sur un milliard d'agents infectieux , seulement un millier est pathogène pour l'homme
- Production d'une évolution, voire une adaptation de l'hôte à l'agent infectieux
- La défense anti-infectieuse compte pour un mécanisme de prédilection en cas de défaillance, d'autres mécanismes accessoires entrent en jeu

\* **Objectif Général** : - Présenter les organismes de la défense anti-infectieuse

- \* **Objectifs. Spécifiques** : - Exposer le rôle des barrières anatomophysiologiques  
 - Décrire le mécanisme de défense préférentiel

\*\* ADK 04/07/04 \*\*

## IMMUNOLOGIE TRANSFUSIONNELLE

### INTRODUCTION

La Transfusion est avant tout un acte thérapeutique obéissant à des règles précises d'ordre immunologique. Elle a plusieurs applications en biologie, hématologie, gynécologie, pédiatrie ... Les débuts sont du 20<sup>ème</sup> siècle après la découverte des groupes sanguins «**ABO**» par Landsteiner

Elle consiste à prélever sur des «donneurs» présumés sains, des produits et dérivés sanguins et à les injecter par voie intraveineuse (IV) à des «receveurs» en vue de compenser les pertes connues par le receveur ou, en vue de modifier le cours de la situation pathologique.

Ex : Sanguinotransfusion dans la maladie hémolytique du nouveau né, les autogreffes.

Par ailleurs le système transfusionnel participe aux :

- \* Productions de réactifs nécessaires à la pratique journalière au labo. d'immuno-hématologie
- \* Etudes scientifiques dans le domaine d'immunogénétique, immuno de greffe, du fractionnement des protéines

### I/ - GROUPES SANGUINS

C'est un ensemble «**d'alloantigènes**» présents à la surface des cellules sanguines (GR,GB,Plaquettes) et peuvent induire lors de la perfusion d'un composé cellulaire, un conflit immunologique : alloimmunisation. Il est consécutif à une réaction spécifique d'un Ac. et de l'Ag. correspondant porté par la cellule sanguine, ces «**alloantigènes**» sont regroupés en système.

Exceptionnellement l'Ac. est présent dans le plasma transfusé, dans certains de ces systèmes spécifiques à d'autres mécanismes répandus sur toutes les lignées

### I. A/ - SYSTEME ABO

**1/ - Règles transfusionnelles de compatibilité ABO** (pour les composants cellulaires)

C'est le plus connu il est donc impératif de connaître les règles: il est défini par trois (3) Ag :A,B,H plus, les Ac naturels réguliers AntiA et AntiB.

On distingue quatre (4) groupes : **A,B,AB** et **O**. Le groupe **A** possède plusieurs variantes antigéniques : A1, A2,A3, Ax dont l'intérêt est limité en 2 types A1= 90% des sujets A2 = 10% ce qui donne les phénotypes possibles : A1,A2,B, A1B,A2B et O

La technique de mise en évidence du groupe ABO :

- **Epreuve de Beth Vincent** utilisant des sérums tests connus pour rechercher les Ag connus par les hématies

- **Epreuve de Simonin** : E. sérique utilisant des hématies tests pour la mise des Ac

Les anticorps immuns du système **ABO = IgG Anti A et Anti B** irréguliers très hémolytiques, très dangereux quand ils sont présents dans le plasma du donneur, d'où la recherche systématique lors d'un don. L'incompatibilité **ABO** est une complication mortelle de la transfusion sanguine, elle consiste à ne jamais transfuser à un patient un produit sanguin contenant des hématies dont les Ag sont absents de celles du receveur.

On parle de **transfusion identique** quand le groupe ABO du donneur est le même groupe ABO du receveur et, de **transfusion compatible** quand le groupe ABO du donneur est différent de celui du receveur mais, respectant les règles de la compatibilité dans le système ABO

**2/ - Règles de compatibilité du plasma :**

C'est l'inverse de la règle pour le transfert des composants cellulaires

A → O      B → O      AB → O      AB → A      AB → B

**I. B/ - SYSTEME RHESUS**

Système très immunogène possédant des Ag formant très immunisant, l'on a 5 Ag à retenir  
 - **Ag D** qui détermine le type **Rh + (95%)** - **Ag C** et **c** - **Ag E** et **e** qui sont Antithétiques  
 - Absence d'Ag D détermine le **Rh -**; il existe des variantes dont le D faible = **Du** qui est Rh + la rech de ces Ag se fait par phénotypage Rhésus à l'aide de serum test spécifique Anti D, Anti C, Anti c, Anti E et A.

Les Ac sont ses **Ig G** secondaires à une alloimmunisation observée lors d'une transfusion ou d'une grossesse incompatible

Règles : il est interdit de transfuser du sang des hématies dotées d'Ag **D** à des «receveurs» ne les possédant pas

**I. C/ - AUTRES SYSTEMES IMMUNOGENES**

Il existe d'autres systèmes susceptibles d'engendrer une « alloimmunisation »

**1/ - Système KELL** Il est défini par **4** antigènes Ag : **K, k, Kpa, Kpb**

L'Antigéno-compatibilité vis à vis de l'Ag K est fortement conseillé, les Ac sont toujours immuns et secondaires à une transfusion incompatible ou à une alloimmunisation foetomaternelle, elle est déterminée comme un phénotypage Rhésus

**2/ - Système DUFFY** Il est défini par **2** antigènes (Ag) : **Fya, Fyb**

L'Ag. **Fya** est fortement immunogène, ce sont des «Ag. antithétiques» où la présence de l'un, n'induit pas obligatoirement celle de l'autre

Ex : Fy (A+,b+); Fy(a-,b+); Fy (a+,b-) Les Ac immuns sont de type **Ig G**

**3/ - Système KIDD** Il est défini par **2** antigènes Ag : **JKa, JKb**

L'Ag. **Jka** est très immunogène et responsable d'accident post-transfusionnelle et de la maladie hémolytique du nouveau né.

**4 : - Système MNSs** **M** et **N** = Antigènes antithétiques **S** et **s** : Ag antithétiques

Système doté d'Ac naturels : Ac Anti M et Anti N, S et s sont immunogènes avec S bcp +

**Conclusion Partielle :**

La prévention de l'AlloImmu par ces systèmes est assurée par le respect de la compatibilité dans le système Rhésus, ABO, Kell et parfois étendu au système MNSs, KIDD et DUFFY quand il s'agit d'une transfusion au long cours. La prévention du conflit immu. est assurée par la recherche d'Ac Irréguliers avant la transfusion de concentrés de globules rouges et le respect de la composition. vis à vis de l'Ag correspondant

Lorsque la recherche d'Ac. irréguliers est positive, une epreuve de comp. croisée au laboratoire est réalisée en mettant en présence le serum du «receveur» et les hématies du concentré de GR du «donneur». Afin d'éviter les AlloImmu l'on applique le test de « Coumbs »

**I. D/ - SYSTEMES DE GROUPE PLAQUETTAIRE**

**1/ - Systèmes plaquettaires immuns à différentes lignées cellulaires**

→ Système ABO → Syst HLA : AlloImmu peut être foeto Mat, par transf. ou 2 aires à Greffes

**2/ - Systèmes plaquettaires stricts : HPA : Humain Pq Ag5** Ag majeurs HPA 1 à 5

Seul **HPA 1** est de loin le plus immunogène avec l'Ag HPA1a, on peut observer des accidents post-transfusionnels (trombopenie) ou des incompatibilités foeto-maternelles...

**E/ - SYSTEME DE GROUPE GRANULOCYTAIRE**

**1/ - Ag communs à d'autres cellules sanguines**

→ Ag A,B,H → Ag HLA → Ag Kell / KIDD

**2/ - Ag. spécifiques des Granulocytes :**

L'on a cinq (5) principaux Ag notés NA, NB, NC, ND, NE → Destruction Granulocytes

## **II/ - COMPLICATIONS IMMUNOLOGIQUES**

Elles sont liées à des conflits Ag-Ac provoqués par le composant sanguin injecté, l'on a plusieurs expressions

### **1/ - Transfusions inefficaces**

L'on assiste à l'absence d'amélioration cliniques et biologiques après la transfusion due à une alloimmunisation anti-erythrocytaire (GR) et anti-HLA ou anti-Ag Plaquettaire

### **2/ - Syndrome Frisson-Hyperthermie**

R° d'intolérance provoquée par la libération de substances pyogènes et pyrogènes ← AlloImmu

### **3/ - Incidents Allergiques**

Dus à l'Hypersensibilité immédiate avec libération «*d'histamine*» à activation du complément

### **4/ - Réactions du Greffon contre l'hôte**

Compl. rares des tranf sanguine due à la présence de cell immunocompétente chez le transfusé

### **5/ - Hémolyse Aigue**

- Elle peut être intra-vasculaire ← Incompatibilité ABO dans 90% des cas,
- Elle peut aussi être intra-tissulaire: les Ac immunisants sont responsables d'une destruction splénique et/ou hépatique, ce sont les **Ig. G**

### **6/ - Hémolyse Retardée**

C'est le même mécanisme que l'hémolyse aigue mais son expression est retardée de 5 à 6 jours, ce qui témoigne une réstimulation avec des réactions secondaires chez des patients dont les Alloanticorps étaient présents à titre non décelable avant la transfusion.

## L'IMMUNITE DE GREFFE

**La Greffe** est définie comme le transfert d'un organe ou d'un ensemble de tissu d'un organisme dit «**donneur**» vers un organisme dit «**receveur**» de la même espèce ou d'une autre espèce. Ex : greffe de peau, moelle osseuse, bras, reins, foie. L'évolution dépend de la réaction immunologique du «donneur» ou du «receveur» vis à vis des antigènes (**Ag.**) d'histocompatibilité appartenant à différents systèmes propres au «donneur» et portées par le greffon. Ceci peut aboutir soit à un «rejet» ou à la «tolérance» ou au contraire à une «**GVH**» : réaction du greffon contre l'hôte. Dans certaines pathologies telles les insuffisances renale, hépatique, la drépanocytose : la greffe constitue le seul traitement.

### I/ - CLASSIFICATION      Le greffon est l' organe, tissu ou cellules à greffer

**1/ - Autogreffe ou greffe autologue :** le donneur correspond au receveur (ex : greffe de peau)

**2/ - Isogreffe ou greffe syngénique :** elle est réalisée chez des individus génétiquement identiques comme des jumeaux homozygotes

**4/ - Allogreffe :** le donneur et le receveur sont de la même espèce mais sont génétiquement différents.

**5/ - Xenogreffe ou heterogreffe:** le donneur et le receveur appartiennent à des espèces différentes et sont génétiquement différents.

- **Le Sort des greffes** est déterminé dans les 3-8 jours qui suivent la greffe et, la revascularisation de l'organe, en général :

a/ - Les Autogreffes et Isogreffes ne sont jamais rejetées      b/ - Les Xenogreffes sont rejetées

c/ - Les Allogreffes sont rejetées en cas d'incompatibilité entre le donneur et le receveur

d/ - La greffe d'une lignée parentale à un individu F1 est toujours bien tolérée alors que celle de l'individu F1 à la lignée parentale est toujours rejetée

e/ - La greffe entre deux (2) hybrides toujours tolérée

f/ - La greffe d'une lignée parentale à un individu F2 peut prendre dans ¾ des cas

### II/ - LE MECANISME DE REJET DE GREFFE

**1/ - Rejet subaigu:** intervient quelques minutes ou heures après la greffe

**2/ - Rejet aigu :** intervient dix (10) jours après la greffe

**3/ - Rejet chronique :** intervient au delà de dix (10) jours après la greffe

Une greffe sans rejet est caractérisée par, une revascularisation dès le 3<sup>ème</sup> jour, et une prise au 3<sup>ème</sup> jour

#### II. A/ - PHASE D' INDUCTION

La réponse immunitaire : RI est induite par les «Ag. d'histocompatibilité»

Les Ag. les plus immunogènes sont : \* **Ag majeurs : HLA 1 et HLA 2**

\* **Ag. mineurs :** Ag des systèmes ABO, Rhésus, Kell, Duffy ect ... responsables de 50% de rejet

Le S. I. du receveur rencontre les cellules du greffon exprimant les cellules HLA 1 ou 2

De plus, les cellules présentant l'Ag: **CPA** du donneur vont présenter les molécules **HLA 2** au **TCR** du **LT4** du receveur et, les **HLA 2** au **TCR** des **LT8**. Le TCR reconnaît les peptides du soi insérées.

L'Immunogénicité d'un organe va dépendre du nombre de CPA qu'il possède.

Par ordre de croissance d'organes induisant le rejet, l'on a: MO., ilots de L , cœur, reins, foie

Les LT ayant reconnus les Ag. du greffon vont s'activer, proliférer et produire les «*Cytokines*» mises à la différenciation des sous-populations.

## II. B/ - PHASE EFFECTRICE

1/ – **La réponse cellulaire:** responsable du rejet aigu dans les **10 j** après la greffe

**a/ - Réponse cellulaire spécifique** par les LT cytotoxiques qui vont détruire les cellules du greffon par reconnaissance des Ag. HLA 1, parfois de classe 2 et ceux-ci par «cytolyse».

Les LT cytotoxiques sont naïfs au départ et, n'ont leur effet cytotoxique qu'après l'action de IL 2 ou INF gamma ou TNF

**b/ - Réponse cellulaire non spécifique** par les cellules tueuses non spécifiques : cellules NK, les cellules Phagocytaires : Macrophage, PNE, PNN stimulées par les «*cytokines*» : IL 2, IL 5 ou INF gamma qui participent à la lyse des cellules du greffon par le phénomène ADCC important dans les rejets chroniques

### 2/ - Réponse Humorale ← action des **alloanticorps**

Elle est constituée par l' action des «alloanticorps» issus des anticorps du receveur contre les Ag. du greffon. Les **LB** du receveur sont activés par les **Ag. du greffon** et sont transformés en Plasmocytes par la production d'Ac. dirigés contre le greffon.

La fixation de ces Ac. va induire l'activation du complément qui aboutit à la lyse des cellules du greffon responsable du «**rejet hyperaigu ou suraigu**» qui survient à quelques minutes ou heures après la greffe. Le rejet hyperaigu apparaît quand le receveur possède des Ac. préexistants dirigés contre les Ag. du donneur avant la greffe.

Ces alloanticorps interviennent lors de greffe, de grossesse non compatible, de transfusion. Le rejet hyperaigu est marqué par des lésions ischémiques car, les Ac. en se fixant sur l'épithélium vasculaire active le système du complément et le système de la coagulation

L'on a la réponse humorale de cytotoxicité des cellules NK, Macrophages, PNE, PNN qui vont induire la «destruction du greffon par le phénomène **ADCC**», responsable du rejet sub-aigu ou, rejet de type «**arthus**».

Les réponses humorales et cellulaires sont toutes les deux (2) responsables du «rejet tardif et du rejet chronique». En effet 20% seulement des greffes de rein sont fonctionnelles après dix (10) ans; et 5% pour le cœur après sept (7) ans

### C/ - PHASE DE REGULATION

La régulation est assurée par les «*Cytokines*» produites par les LT et les Macrophages = IL 1,2,3; facteurs de croissance des LT, INF gamma; facteurs de croissance des LB, TNF alpha, IL 8

### III/ - REACTION DU GREFFON CONTRE L'HÔTE (**GVH: Graft Versus Host**)

Elle peut être considérée comme l'inverse ou la symétrique de la réaction du rejet de greffe que l'on retrouve généralement lors de greffe de tissus riches en cellules immunocompétentes (LT).

Elle survient quand le «receveur est immunodéprimé» soit naturellement ou après le traitement immunosuppresseur réalisé au cours de la phase de préparation avant la greffe.

Le receveur est incapable d'éliminer les cellules immunocompétentes du greffon qui vont réagir et détruire les tissus du receveur.

Les circonstances favorisantes sont : les cas d'allogreffe de la moelle osseuse et, du tissu digestif et aussi les cas de transfusion chez les malades atteints de la maladie de Hodgkin

Les organes les plus touchés sont : peau, tissu digestif, foie

La «GVH aigue» apparaît vers le 30<sup>ème</sup> jour après la greffe et, peut évoluer vers une «GVH chronique» après 3 mois: 100 j qui est caractérisée par une cirrhose et sclérodermie

#### **IV/ - PREVENTION DU REJET DE GREFFE ET DE LA GVH**

##### **1/ - Sélection du meilleur donneur :**

Le meilleur donneur est avant tout: soi même ou, un jumeau et un parent.

La R.I. étant induite essentiellement par les molécules **HLA** , la compatibilité donneur et receveur est indispensable. En général, l'on recherche dans la famille des apparentés HLA, puis dans les bases de données internationales mais, cela est difficile ...

L'histocompatibilité est établie grâce à la réponse lymphocytaire mixte «**RLM**» : examen de laboratoire qui mesure la réponse des LT du receveur face aux Ag. exprimés sur les cellules du donneur, quand la **RLM** est négative: la greffe est alors réalisable. Mais l'on respecte aussi la compatibilité au niveau des groupes sanguins ABO, Rh... Le dépistage sérologique des infections (VIH,Hépatite, CMV )

##### **2/ - Conditionnement du greffon**

Il faut le débarrasser de sang et, le conserver dans une banque d'organe

##### **3/ - Préparation du receveur**

**a/** - Typage HLA et Phénotypage érythrocytaire

**b/** - Recherche d'anticorps préformés : R° Microlymphocytotoxicité, ident des Ac. AntiHLA

**c/** - Le CrossMatch : Epreuve de compatibilité Lympho. Mise en prés. Serum R et Lympo D

**d/** - Réaction Lymphocytaire Mixte : **RLM**, si Cross Match et RLM sont négatif : la greffe est alors possible

**e/** - Traitement immunosuppresseur avec les Corticoïdes, Cyclosporine, Serum Anti CD3 qui diminue la réponse du receveur.

##### **4/ - Surveillance post greffe :**

Il faut réaliser une surveillance clinique, biologique pour réagir dès les premiers signes d'un rejet, d'une GVH ou d'une infection

#### **CONCLUSION**

La seule issue thérapeutique de certaines maladies étant la «greffe», il est important de connaître les mécanismes immunologique pouvant intervenir au cours des transferts d'organes: les rejets de greffes et, les mesures préventives à adopter

\*\*\*      *ADK 04/08/04*                      *ADK 05/07/03*                      *30/06/02*                      \*\*\*

## IMMUNITE ANTI-TUMORALE

Le Cancer est l'une des trois (3) premières causes de décès dans les pays industrialisés, la difficulté de traitement réside dans le fait qu'il s'agit d'éradiquer toutes les cellules malignes sans tuer le patient, l'idéal serait d'induire une réponse immunitaire spécifique antitumorale.

Après la voie d'approche de Paul Erlich et les études expérimentales cliniques de Brunei et Thomas, la théorie de l'immuno-surveillance débouchera sur des tentatives d'immunothérapie spécifique ou non spécifique.

Au début du 20<sup>ème</sup> siècle plusieurs études expérimentales et chimiques ont mis en évidence l'existence d'un contrôle immunologique du développement des tumeurs malignes par des R. non spécifiques à travers l'immu. naturelle, des R. spé. d'Ag. tumoraux. Ces travaux ont permis l'amélioration des méthodes de diagnostic et de classification des maladies tumorales et, de suivi de leur évolution.

### I/ - THEORIE DE L'IMMUNOSURVEILLANCE : THEORIE DE BURNET

#### A/ - ASPECTS THEORIQUES

##### **1/ - Lyse des cellules cancéreuses par les cellules NK**

Ces cellules ont été découvertes par leurs propriétés de lyser les cellules cancéreuses (lignée érythroleucémie K 562) dépourvues de CMH 1 et 2. Les NK pourraient donc tuer les cellules cancéreuses sans CMH 1 ou porteuses de cellules altérées.

##### **2/ - Théorie de la surveillance immunitaire ← BRUNEI en 1970**

- Le Système immu. surveille en permanence le «Soi» et le «Non Soi», il reconnaît et élimine les cellules cancéreuses (cell. C.) quand elles sont produites.
- Les cell. C. échappant à la surveillance immu. sont à l'origine des «cancers» .
- L'activation du S.I. peut résoudre la destruction des cell. C.

Cela suppose qu'une cellule cancéreuse possède à sa surface des structures antigéniques particulières et différentes des cellules normales. L'on a de nombreux marqueurs tumoraux qui interviennent dans les Ag. Foetaux : Ex alpha FoetoProtéine.

#### B/ - EXPERIMENTATION CHEZ L'ANIMAL

##### **1/ - Transfert adoptif de la tumeur de Winn**

En respectant les règles d'histocompatibilité, plusieurs résultats ont été obtenus

- \* Le Transfert de Lymphocytes d'un animal avec tumeur à un animal avec ou sans tumeur n'induit aucun résultat sur la tumeur préexistante
- \* La Greffe d'une tumeur et transfert de Lympho. d'un animal à un autre induit la prise de la tumeur
- \* La Greffe d'une tumeur et transfert de Lympho. immuns d'un animal avec tumeur à un autre induit une absence de tumeur
- \* La Greffe d'une tumeur et transfert de serum d'un animal avec tumeur à un autre induit la présence de la tumeur.

Cela suggère la présence de cellules à activité antitumorale chez l'animal porteur de tumeur

##### **2/ - Inhibition de la réponse antitumorale par la masse tumorale**

Des expériences réduisant la masse tumorale montrent une élimination de la tumeur après injection de Lymphocytes, cela suggère que les cellules antitumorales sont dépassées quand la tumeur atteint un certain volume ou que les cellules sont inhibées par des Ac. facilitants.

Ex : apparition de cancers chez les Souris immunodéprimées et, de tumeurs induites par irradiation ultra-violettes chez des Souris normales.

### **C/ - DONNEES CHEZ L'HOMME**

Ces données sont issues des constats cliniques et thérapeutiques. Les Sujets atteints de déficit immunitaire, de troubles congénitaux ou acquis par irradiation, d'infection virale (EBV / HIV), ou par traitement immunosuppresseur développent anormalement une fréquence élevée anormale de cancers. Egalement ceux atteints de déficit de cellules **NK**: maladie de *Chediak-Igashi*

#### **Arguments de cette théorie :**

**a/** - L'autopsie révèle des tumeurs cliniquement inapparentes

**b/** - Plusieurs tumeurs sont infiltrées par les cellules Lymphoïdes, et peuvent être des signes de pronostic favorable

**c/** - Il existe des régressions spontanées de certaines tumeurs

**d/** - Les tumeurs sont plus fréquentes pendant la période néonatale et chez les personnes âgées

Cependant cette théorie prête à beaucoup de discussions. Dans tous les cas, le mécanisme de surveillance tumorale ou facteurs oncogènes; le S.I. intervient pour freiner soit le développement, soit la survenue d'un processus tumoral de façon spécifique ou non spécifique.

#### **\*\* Modèles expérimentaux de la réponse immunitaire \*\***

- L'immunogénicité d'une tumeur peut être démontrée par des expériences de transfert ou, de rejet de greffes chez un receveur syngénique ( ou isogénique : même particularité génétique )

- Ce rejet est observé quand la R.I. spécifique est absente ou retardée chez un receveur immunodéprimé athymique, ou chez les nouveaux nés. - Cette immunisation contre la tumeur nécessite la présence de cellules à action anti-tumorale : Lymphocytes **TCD 4+** et **8+**

- Le pouvoir immunologique des tumeurs est très variable : les tumeurs issues des radiations ou des virus sont très immunogènes et, sont rejetés par l'animal syngénique immunocompétent. Alors que les tumeurs issues des substances cancérogènes chimiques sont acceptés par l'hôte syngénique sauf, celui déjà immunisé contre la même tumeur.

### **II/ - REPONSE IMMUNITAIRE NATURELLE**

Trois types de cellules participent à l'immunité naturelle antitumorale dont les **cellules NK** sont les plus importantes. Des Lymphocytes de patient porteur de tumeur peuvent également tuer les cellules tumorales autologues et, des cellules d'autres tumeurs de même type histologique.

La lyse par les cellules **NK** est issue des substances contenues des leurs granules en particulier : la *Perforine* et les *Granzymes*. La mort de la cible se fait par apoptose (mort programmée) ou par nécrose.

L'on a aussi les Macrophages, les PNN qui vont induire le phénomène ADCC sous l'influence des « *Cytokines* » : **IL 4, 2 et IL 5**

### **III/ - REPONSE IMMUNITAIRE SPECIFIQUE**

l'induction de la réponse immunitaire spécifique nécessite l'activation des Lymphocytes **TCD4** par les **CPA** : cellules présentatrices d'Ag. exprimant des peptides d'Ag tumoraux en association avec la molécule du CMH de classe 2.

Les Lymphocytes T Helper CD4 stimulent la prolifération des Lympho B 1 et Lympho T cytotoxiques grâce aux IL2, TNF, IFN. qui vont induire la production de « *LymphoKinines* » : c'est le phénomène de coopération cellulaire. Ces différentes Cytokines vont activer la cytotoxicité CMH-Dépendante et, accélérer la cytotoxicité directe dépendante des cellules NK.

Les Cytokines IL2, IL3, IL4, TNF alpha aident à l'activation des Lympho B cytotoxiques, les cellules NK, les Macrophages. Ainsi les Lympho B activés vont donner des Plasmocytes sécréteurs d'anticorps (Ac.)

Cependant les LT cytotoxiques sont rarement mis en évidence chez les malades de cancers, et leur présence n'est pas toujours associée à une régression tumorale. Il y a donc un mécanisme d'échappement de la tumeur à la R.I.

Plusieurs mécanismes ont été envisagés pour expliquer le développement des tumeurs :

- l'immunogénicité de la tumeur tient compte de son volume ainsi, une tumeur de petite taille échappe au S.I. mais quand elle devient trop volumineuse, elle contrôle le S.I.
- le mécanisme de blocage ou de suppression est engendré par les Ac de forte affinité:

Anticorps Anti-idiotype

- la production de substances inhibitrices: **TGF bêta** pour les cell. humorales qui inhibe la R.I.
- l'altération des marqueurs cellulaires au niveau de la tumeur, qui conduit à une incapacité, un dysfonctionnement de la R. I.
- la perte de molécule d'adhérence des lymphocytes
- l'acquisition de molécule qui modifie la capacité métastatique **CD 44**

### CONCLUSION :

L'Immunologie des tumeurs reste encore un domaine à explorer, si l'énoncé de la théorie de l'immunosurveillance envisage des mécanismes de défense anti-humorale naturelle et spécifique, il faut noter que la fréquence de survenue de cancers est croissante et que les tumeurs élaborent des mécanismes d'échappement aux contrôles par le système immunitaire.

### \*\*\* -LES ANTIGENES DES TUMEURS \*\*\*

#### 1./ - Les Ag. de transplantation associés aux tumeurs ( TATA )

**a/ - Les Ag. communs :** retrouvés sur les tumeurs issus des virus ( Papillonna V. )

\* Cas du **HTLV 1** (Human T Leucemia Virus 1) \* Il existe de nombreux virus oncogènes

**b/ - Les Ag. spécifiques ( TSTA ) :** ils peuvent → R.I vis à vis de cellules tumorales  
Sltm si l'animal a été préalablement immunisé avec la m. T. ( Expe. sur Souris lignée pure )

#### 2./ - Les Antigènes (Ag.) Non Spécifiques : MEE use Ag Monoclonaux

**a/ - Ag. non spécifiques de la tumeur :** Ils sont exprimés à la surface ou à l'intérieur de cellules normales ou tumorales et mis en évi. par sérum de malades ou , des Ac. monoclonaux

**b/ - Ag. de différenciation ou de distribution restreinte**

La plus part des cell. tumorales représentent la descendance clonale d'une seule cell. rare dans l'organisme. La tumeur peut alors exprimer les Ag qu'on retrouve sur un petit nombre de cellules normales Ex : **CD 10**

**c/ - Ag. oncofoetaux :** alpha Foeto-protéine / Ag issus des HepatoCarcinome / Les ACE

Certaines tumeurs sont des protéines exprimées par le tissu foetal mais peu ou pas exprimé par les tissus adultes

**d/ - Ag. modifiés :** issus des anomalies de Glycolyse dans les cellules tumorales

On obtient l'expression d'un épitope oligosaccharidique : Ag. *Thomson Freidenreich*

\*\*\* ADK 04/07/04

ADK 05/07/03

ADK 28/07/01

\*\*\*



## GENERALITES SUR TECHNIQUES IMMUNOLOGIQUES

### INTRODUCTION

L'Immunologie utilise des techniques d'autres disciplines biologiques mais en se basant sur la réaction **Ag-Ac**, certaines techniques immunologiques ont toutes fois été créées

### I/ - LIAISON ANTIGENE – ANTICORPS (Ag-Ac)

**1/ - Caractéristiques** : Exothermie, Réversibilité, Spécificité

**a/ - Exothermie** : La combinaison entre les sites **Ac** des **Ig** et les épitopes Antigéniques fait intervenir certaines liaisons telles: l. électrostatique, l. hydrogène, l. de VanDerwaals : combinaisons exothermiques qui dégagent 2-40 Kcal par molécule

**b/ - Réversibilité** : C'est la possibilité de dissociation des complexes **Ag-Ac** survenant des certaines conditions : \* présence de chaleur \* acidification du milieu (pH < 3) \* apport d'ions.

Mise à profit dans les réactions d'éluion d'**Ac** complexé à l'**Ag** in vivo Ex : Anémie hémolytique

**c/ - Spécificité** : un site **Ac** ne peut se combiner qu'à un épitope dont il est spécifique, ainsi si un des éléments de la réaction **Ag-Ac** est connu l'autre peut être identifié. Un réactif est spécifique quand il ne réagit qu'avec l'élément que l'on veut rechercher, **la spécificité** est définie comme la capacité qu'à une réaction à pouvoir identifier avec exactitude tous les «tests négatifs» **SP = d / b + d**

**2/ - Aspects**

**a/ - Aspects Qualitatifs** : Affinité et Avidité

**a.1./ - L'Affinité** de l'**Ac** pour l'**Ag** mesure l'intensité des forces de liaison du complexe **Ag-Ac** Elle témoigne de la complémentarité entre le site d'**Ac** et l'épitope Antigénique, elle peut être évaluée par la constante d'association  $Ac + Ag \rightleftharpoons Ag-Ac$  **K = Ag-Ac / Ag . Ac**

**La Sensibilité** des réactions immunologiques s'explique par la valeur élevée de cette constante, c'est la capacité d'une épreuve à pouvoir identifier avec exactitude les résultats positifs

**a.2./ - L'Avidité** d'un **Ac** pour l'**Ag** caractérise la rapidité de formation de l'immuno complexe.

Elle dépend de la constante d'association : valence de l'**Ac**., nombre d'épitope antigénique, conditions du milieu réactionnel ( pH, température. ... )

**b/ - Aspects Quantitatifs** Ils permettent de réaliser certains « dosages » car le dosage des **Ag** est réalisé grâce à des **Ac** de taux connus

### II/ - CLASSIFICATION DES REACTIONS ANTIGENE – ANTICORPS (Ag-Ac)

L'Ensemble des techniques immunologiques utilise les réactions **Ag-Ac** en 2 phases :

\* 1 ère phase marquée par la formation de l'immuno complexe: I.C. c'est la réaction Ag-Ac

\* 2 ème phase avec la visualisation de l'I.C. formé et, la distinction des différentes techniques

**1/ - R° Ag-Ac Visibles** : L'œil du manipulateur appréhende directement l' I.C. formé

\* Réaction de précipitation : l'Immuno complexe forme un précipité ( cas Ag et Ac sont solubles )

\* Réaction d'agglutination : l'IC forme un agrégat visible \* Réaction utilisant le complément

**2/ - ImmunoMarquage** : dans ce cas l'IC n'est pas visible, l'on a donc recours au

marquage d'un élément de l'IC ( Ag ou Ac ), selon la nature du marqueur utilisé on distingue :

\* Réaction RadioImmunologique où le marqueur est un «isotope» \* R. ImmunoEnzymatique avec une «enzyme» \* R ImmunoFluorescence: le marqueur est un «fluorochrome»

### CONCLUSION

Les caractéristiques de la liaison **Ag-Ac** permettent d'avoir plusieurs techniques utilisées aussi bien en immunologie que dans d'autres disciplines.

## LES REACTIONS D'AGGLUTINATION

### INTRODUCTION

L'Agglutination immunologique regroupe un ensemble de technique permettant d'individualiser des groupes **Ag-Ac** qui forment un «agregat visible» à l'œil nu ou grossit 40 fois

**Objectifs** : - *Enoncer le principe de l'agglutination - Citer les facteurs influencants de la R°*  
 - *Décrire les méthodes d'agglutination - Citer les applications*

### I/ - ASPECTS FONDAMENTAUX

**A/ - Théorie de Pollack** : Elle permet d'expliquer le phénomène d'agglutination

Les particules en suspension gardent une certaine distance entre elles, du fait des charges électriques. Les **Ac.** agglutinants viennent vaincre cette atmosphère ionique pour rapprocher les particules antigeniques qui forment des «agregats visibles»

**B/ - Facteurs influencants la réaction d'agglutination**

**1/ - La Nature de l'Ag** : L'agglu. n'est possible qu'avec des **Ag** particulières ayant une valence sup. ou égale à «2» (GR); plus le nombre d'épitope d'un **Ag** est grand, plus elle est facile

**2/ - La Nature de l'Ac** : La réaction se fait préférentiellement avec les **IgM** car ils sont pentavalents donc, des **Ac** Agglutinants et peuvent induire une «agglutination spontanée». Les **Ig G** rentrent dans des réactions en utilisant des artifices de labo induisant une «agglu. artificielle»

**3/ - Le Potentiel Zéta** Il a été expliqué grâce à l'utilisation des globules rouges Il existe une force de répulsion due à l'identité de charge et au potentiel Zéta qui fait qu'à l'état normal, les globules rouges (GR) n'agglutinent pas spontanément. Le potentiel Zéta est la différence de potentiel entre la surface des GR et le milieu neutre. La capacité agglutinante d'un **Ac** dépend de l'aptitude avec le pZ pour atteindre les épitopes de particules antigeniques

**4/ - Conditions du milieu réactionnel**

- La température est fonction de la nature de l'**Ac** \* **Ac** chaud ( temp. élevé) \* **Ac** froid ( t. basse)
- Le pH induit une bonne agglutination s'il est compris entre 6 et 8
- La Force ionique élevée inhibe la fixation des **Ac** et, diminuée : l'on a une agglu. non immunogène

### II/ - METHODES DES REACTIONS D'AGGLUTINATION

**A/ - AGGLUTINATION ACTIVE OU DIRECTE**

Ce sont des réactions d'agglu. mettant en présence directement des **Ag.** particulières et les **Ac.** agglutinants. Elle peut se dérouler sur lame, tube, plaque ou microplaque. Elle peut être qualitative ou quantitative

- **Applications** : \* *Groupage sanguin ABO* \* *Sérodiagnostic de Widal et Felix*  
 Globules Rouges + **Ac** agglutinant == > Agglutination ( agregat )

**B/ - AGGLUTINATION PASSIVE OU INDUITE**

La réaction d'agglutination est réalisée avec des **Ag.** solubles préalablement fixés sur des particules servants de support. Les supports généralement utilisés sont les globules rouges (GR) ou des particules inertes ( latex, cristaux de cholestérol ...) Le choix du support et, le mode de fixation sont fonction de la nature de l'**Ag.** Il y a trois (3) techniques de fixation de l'**Ag** sur la particule.

**B.1./ - Simple contact Ag-Particule** à 37°C pendant 2-4 H ou 4° pendant 18-24 H

- **Appli.** : \* *MNI -Test* (mononucléase infectieuse) \* Test recherche des facteurs rhumatoïdes

**B.2./ - Voie chimique** : les produits tels la « *Benzidine, Glutaldehyde* » facilitent l'adhésion des protéines sur les G.R. **Application.** : \* *TPHA / VDRL* (recherche de la Syphilis)

**B.3./ - Voie immunologique** : La substance à fixer à une double propriété **Ag-Ac** : celle de l'**Ac** dirigée contre la particule qui doit la porter, et celle de l'**Ag** utilisée dans la réaction d'agglutination.

**Application** : \* *Réaction de Waaler - Rose* dans le cas des polyarthrites rhumatoïdes

**PS** : La «réaction d'agglu. inverse» est une dérivée de l'agglu. passive ici c'est l'**Ac** qui est fixé sur un support et, l'on peut mettre en évi. des **Ag** solubles; application : Sérotypage souches bactériennes

### **III/ - AGGLUTINATION ARTIFICIELLE**

Grace à des «artifices de laboratoire» il est possible de réaliser une réaction d'agglu. entre «les **Ag** particulaires et les **Ac**. non agglutinants». Ils agissent sur les facteurs pouvant influencer le potentiel Zéta, ils le diminuent de sorte que l'environnement soit favorable à l'agglu. en cas de spécificité entre **Ag** et **Ac**. Les artifices sont : les macromolécules, enzymes et les antiglobulines.

**1/ - Les Macromolécules** : \* *Albumine \* Dextran \* Ficall* qui augmentent la densité du milieu et qui diminuent le potentiel Zéta

- **Application:** \* *Détermination du Rhesus standard Ag D* : serum test composé d'**Ac AntiD** en suspension dans le serum albumine- bovine (SAB): 20-30%

**2/ - Les Enzymes Protéolytiques** : \* *Trypsine \* Papaine \* Bromeline* qui en décapant la surface des GR diminuent leur charge électrique et leur potentiel Zéta

- **Application:** Recherche des **Ac** et **Ag** de groupes sanguins erythrocytaire des systèmes *Kell, Kidd, Duffy* : systèmes mineurs mais immunogènes.

**3/ - Les AntiGlobulines** , Elle vont induire le «*test de Coombs*» qui permet de déceler la présence d'**Ac**. spécifique et le complément fixé sur les globules rouges (GR). Le réactif contenant l'antiglobuline est le serum de Coombs qui peut être polyvalent ou spécifique. Le test peut être direct ou indirect ( **Cf : Schéma** )

- **Test Direct** : il met en évidence les **Ac** ou le complément fixé sur les GR in vivo

- **Application TCD** : Diagnostic de la maladie hémolytique du nouveau né

- **Test Indirect** : réalisé sur le serum ou le plasma, met en évidence les **Ac** fixés in vitro

- **Application TCI**: mise en évi des **Ac AntiD** Recherche des agglutinines irrégulières (RAI)

### **IV/ - INHIBITION DE L'AGGLUTINATION**

C'est une méthode permettant de rechercher des **Ag** solubles qui en se fixant sur les **Ac** agglutinants inhibent l'agglutination que ces derniers peuvent réaliser avec des **Ag** particulaires

- **Application** : *Mise en évidence HCG*

## LES REACTIONS D'IMMUNOPRECIPITATION

### INTRODUCTION

#### I/ - ASPECTS FONDAMENTAUX

**A/ - Methode d'Helderberg et Kendall**

**B/ - Théorie de Marrack**

**C/ - Facteurs influencant l'Immunoprécipitation**

1/ Les Fact Spécifiques : \* Affinité de l'Ac pr l'Ag \* Concentrations représentatives des Ac et Ag

2/ Les Fact. Non Spécifiques : \* l'Agitation méca. accélère la PP \* Ph \* Force Ionique \* Durée d'incubation \* Présence d'agents interférants ds la R : Dextran, Polyéthylène glycol ...

#### II/ - REACTIONS D'IMMUNOPRECIPITATION EN MILIEU LIQUIDE

**A/ - Réaction Qualitative : Ring Test = Test de l'Anneau**

1/ Principe

2/ Applications : \* Sérotypage de Langfield \* Suivi de la pdct° d'Ag chez les animaux

**B/ - Réactions Quantitatives**

1/ - Meth d'Heidelberg et de Kendall

2/ - Nephelométrie

3/ - Turbidimétrie

#### III/ - REACTIONS DE PRECIPITATION EN MILIEU GELIFIE

##### III. A/ - METHODES DE DIFFUSION SIMPLE

**1/ - Technique de OUDIN**

a/ - Principe

b/ - Applications: \* Dosage de l'Ag % à courbe d'étalonnage \* Séparation de ++ systèmes de PP

**2/ - ImmunoDiffusion Radicale = méthode de MANCINI**

a/ - Principe : Meth qualitative d'Immunodiffusion simple bidimensionnelle

b/ - Applications : \* Dosage des Protéines \* D. Fct des cplmt \* D. des alpha Foetoprotéines

**3/ - ElectroImmunoDiffusion = méthode de LAURELL**

##### III. B/ - METHODES DE DIFFUSION DOUBLE

**1/ - La Techique d'Ouchterlony**

a/ - Principe : Technique qualitative d'immunodiffusion double bidimensionnelle

b/ - Application: \* Det. du nombre de constituants antigenique en utilisant ++ Ac

\* Précision des spécificités d'un Ac contenu ds un antiserum\* Identification des épitopes d'un Ag

**2/ - Electrosynerèse**

a/ - Principe : méthode d'immunodiffusion double

b/ -Appli. : \* Détection similaire d'un Ag et d'un Ac dans un échantillon Ex: Ag Hbs et Ac AntiHbs

**3/ - Immunoélectrophorèse = méthode de GRABAR**

a/ - Principe: technique qualitative comparative combinant une separation électrophorétique à une immunodiffusion double en gel

b/ -Appli. : Etudes des Dysprotéinemies Ex DysgammaGlobulemie pdt la maladie de Waldenström

#### IV/ - REACTION D' IMMUNOFIXATION

a/ - Principe : Technique qualitative proche de l'Immunoélectrophorèse

b/ - Application : \* Détection et identification des Protéines monoclonales, des Dysglobulinémie

\* Utilisée en complément de l'Immunoélectrophorèse

\*\*      ADK 07/04      ADK      06/03      \*\*

## LES REACTIONS D'IMMUNOPRECIPITATION

### INTRODUCTION

Les réactions d'immunoprécipitation ( I.P.) furent découverte par **Krause** en 1930, et leurs essor est issu des travaux **d'Heilderberg et Kendal** en 1993

Elles résultent de la mise en présence d'un **Ag** soluble et de l'**Ac** homologue qui en s'associant forment un «complexe immunitaire insoluble visualisable à l'oeil nu».

Les réactions d'ImmunoPrécipitation (IP) qualitatives ou quantitatives sont réalisables en phase liquide ou en phase solide, ce sont des réactions très spécifiques mais peu sensibles.

### I/ - ASPECTS FONDAMENTAUX

#### I. A/ - Méthode d'Helderberg et Kendall

C'est une méthode de précipitation quaititative à l'origine de la compréhension des mécanismes de l'IP. Elle consiste à introduire dans une série de tubes, une quantité fixe d'antiserum (Ac) puis, des quantités croissantes d'**Ag** selon un même volume.

Un précipité apparaît faible dans les premiers tubes puis, augmente en intensité jusqu'à un maximum; il diminue ensuite pour disparaître dans les derniers tubes.

Il est possible de tracer une «courbe de précipitation» donnant la quantité d'**Ac** précipité en fonction de la concentration d'**Ag**. Le type de la courbe variant en fonction du type de serum et d'**Ag** utilisé. L'examen de la courbe permet de distinguer trois (3) zones : une zone d'excès d'**Ac**, une d'équivalence et, une d'excès d'**Ag** qui donne une courbe de «type Lapin ou type Cheval» ( **Cf 1** ) dont l'explication de la restriction de précipitation repose sur la théorie de Marrack

#### I. B/ - Théorie de Marrack

Selon cette théorie, il se forme un réseau tridimensionnel unissant **Ac** et **Ag** dans lequel les **Ac** servent de ponts entre les molécules d'**Ag** , cela suppose que la molécule d'**Ag** est moins bivalente pour le déterminant antigénique. Il en est de même pour la molécule d'**Ac**. Ce réseau stabilise les agrégats d'immuns complexes (I.C.) qui ont une solubilité différente de celle des **Ac** et des **Ag** pris séparément.

Dans les premiers tubes, tous les déterminants antigéniques sont saturés, les immuns complexes (I.C.) formés sont de «petites taille» et, il n'y a pas de reseaux. Au fur et à mesure que la quantité d'**Ag** croit, ils augmentent de taille et, il se forme un réseau avec une précipitation qui atteint son maximum au point d'équivalence. Quand on rajoute des **Ac**, les immuns complexes se resolubilisent et les propriétés disparaissent.

#### I. C/ - Facteurs influencant l'immunoprécipitation

##### 1/ - Les Facteurs spécifiques :

\* Affinité de l'**Ac** pour l'**Ag** \* Concentrations représentatives des **Ac** et **Ag**

##### 2/ - Les Facteurs non spécifiques :

\* l'agitation mécanique accélère la précipitation \* pH \* Force ionique \* Durée d'incubation  
\* Présence d'agents interferants dans la réaction : *Dextran, Polyéthylène glycol ...*

## **II/ - REACTIONS D'IMMUNOPRECIPITATION EN MILIEU LIQUIDE**

### **A/ - Réaction Qualitative : Ring Test ou Test de l'anneau** ( Cf )

**1/ - Principe :** dans le fond d'un tube à hémolyse de faible section, on introduit l'antiserum puis on dépose véritablement à la surface la solution antigénique

\* Si la «réaction est positive», il apparaît un « anneau » en moins de 5 mn à l'interface

### **2/ - Applications :**

\* Sérotypage de Langfield \* Suivi de production d'Ag chez les animaux en cours d'immunisation

### **B/ - Réactions Quantitatives**

#### **1/ - Meth d'Heidelberg et de Kendall**

A la zone d'équivalence, le précipité formé est maximal et il n'y a pas d'Ac et d'Ag libres, on dose le précipité par dosage de l'azote. connaissant la quantité d'Ac apporté, on peut déterminer le taux d'Ag : technique utilisée en immunologie fondamentale.

**2/ - Nephelométrie :** Elle est appliquée dans le «dosage des protéines sériques »

- **Principe :** L'immuno complexe (I.C.) en suspension soumis à l'action d'une longueur d'onde monochromatique inadante est capable de la disperser sous différents angles.

La longueur d'onde dispersée sous un angle différent de « 0° » qui dépend de la quantité de précipité est captée par un photodecteur dont le signal est proportionnel à la longue d'onde dispersée. Une gamme d'étalonnage est réalisée afin d'avoir le taux d'Ag.

#### **3/ - Turbidimétrie :**

Elle est applicable au «dosage des protéines» mais, moins sensible que la Nephelométrie.

- **Principe :** il est semblable à celui de la Nephelométrie, ici les agregats d'I. complexes en suspension vont diffuser la longueur d'onde inadente suivant le nombre d'axes de propagation

## **III/ - REACTIONS DE PRECIPITATION EN MILIEU GELIFIE**

### **III. A/ - METHODES DE DIFFUSION SIMPLE**

Ce sont des techniques au cours desquelles l'Ac est inclus dans le «gel» et l'Ag migre vers lui en formant un gradient de concentration

#### **1/ - Technique de OUDIN :**

\* Dosage de l'Ag % à une courbe d'étalonnage \* Séparation de plusieurs systèmes de PP

- **Principe :** l'on va remplir un tube de verre de faible section d'un gel d'agar-agar rendu fluide par chauffage modéré dans lequel l'antiserum a été inclus. Après solidification , la solution antigénique est déposée à la surface du gel; il y a migration pour la formation de précipité.

Un disque ou anneau de PP se forme et, se stabilise à une distance «H» de l'interface quand on est à la zone d'équivalence. Le front de PP est proportionnel au logarithme de la concentration de l'Ag. et au temps

#### **2/ - Immunodiffusion radicale = méthode de MANCINI** ( Cf. )

- **Principe :** méthode qualitative d'Immunodiffusion simple bidimensionnelle

L'on utilise des plaques de gélose en couche mince contenant l'Ac spécifique de l'Ag à doser à concentration constante. L'Ag. est déposé dans des «puits» creusés à l'emporte pièce, il migre concentriquement au point d'équivalence.

Les immuno - complexes précipitent et s'immobilisent, il apparaît un cercle de PP autour du puit dont la surface est proportionnelle à la quantité d'Ag. Une gamme d'étalonnage est réalisée

- **Applications :** Dosage des protéines, des fractions des complement, des alpha Foetoprotéines.

### 3/ - Electroimmunodiffusion : méthode de LAURELL

Dans les techniques précédentes, la diffusion est spontanée et peut être longue pour les protéines de poids moléculaire élevé. La technique de Laurell consiste à faire migrer l'Ag dans le «gel» contenant l'Ac sous l'action d'un «champ électrique».

Les PP obtenus prennent la forme d'un «pic ou fuseau ou rochettes» dont la hauteur est proportionnelle à la quantité d'Ag. Une courbe d'étalonnage rapportant la hauteur du pic est réalisée. C'est une technique plus rapide et, plus précise mais l'appareillage est complexe.

### III. B/ - METHODES DE DIFFUSION DOUBLE

L'Ag et l'Ac sont séparés par un «gel vierge», il migre l'un vers l'autre spontanément ou sous l'action d'un champ électrique

#### 1/ - La Technique d'Ouchterlony

- **Principe**: c'est une technique qualitative d'immunodiffusion double bidimensionnelle.

Ici l'Ag et l'Ac sont dans des «réservoirs» distants de quelques millimètres creusés dans le «gel» et migrent l'un vers l'autre. A la zone d'équivalence, on obtient un «arc de précipité»

- **Applications** : \* Précision des spécificités d'un Ac. contenu dans un antiserum

\* Détermination du nombre de constituants antigéniques en utilisant plusieurs Ac.

\* Identification des épitopes d'un Ag. (Cf)

- *Réaction d'Identité* : lorsque les arcs fusionnent et forment une ligne continue  $A_1 = A_2$

- *Réaction d'Identité Partielle* : les arcs se recollent et laissent apparaître un épéron

- *Réaction de Non Identité* : les arcs sont indépendants et se coupent avec présence de 2 épérons

- *Réaction d'Identité avec variation de concentration de (A)*  $A_1 < A_2$  sinon  $A_1 = A_2$

#### 2/ - Electrosynerèse : méthode d'Immunodiffusion double

- **Principe** : l'Ac et l'Ag sont dans des «réservoirs» distants de quelques millimètre creusés dans un «gel tamponné» et, migrent l'un vers l'autre sous l'effet d'un champ électrique: L'Ac vers la cathode (-) et l'Ag vers l'anode (+); à la zone d'équivalence l'on a apparition d'un « arc de précipitation »

- **Application**: \* Détection similaire d'un Ag et Ac dans un échantillon Ex : Ag Hbs et Ac AntiHbs

#### 3/ - ImmunoElectrophorèse : méthode de GRABAR

- **Principe**: c'est une technique qualitative comparative combinant une «séparation électrophorétique» (PP des différentes fractions protéiques) et une « immunodiffusion double en gel». Elle se fait soit sur une lame ou sur une plaque: deux puits et une rigole centrale sont creusés dans le gel. Les puits destinés à recevoir les échantillons à étudier et du témoin, la rigole: l'antiserum .

L'on a une 1<sup>ère</sup> étape de migration électrique et une 2<sup>ème</sup>: dépôt de l'antiserum pour la diffusion de l'Ag vers le gel Exemple : Lecture Ag monoclonal type Ig G à chaîne légère Kappa ( Cf )

- **Appli.** : Etudes des DysProtéïnemies Ex Dysgammaglobulemie dans la *maladie de Waldenström*

### IV/ - REACTION D'IMMUNOFIXATION

- **Principe** : c'est une technique qualitative proche de l'Immunoélectrophorèse

Dans un 1<sup>er</sup> temps, les constituants d'un mélange antigénique sont séparés par Electrophorèse. Dans un 2<sup>ème</sup> temps, on réalise l'Immunoprécipitation sur le support de migration grâce à l'application d'antiserum monovalent antichaine lourde ( anti  $\mu$ , gamma ) et antichaine légère (Kappa).

Les molécules non reconnues par les Ac sont éliminés par lavage, les complexes Ag-Ac sont révélées par « coloration ». Les Protéines fixées sont seules à fournir une «bande visible»

- **Applications** : \* Utilisée en complément de l'Immunoélectrophorèse ( Cf )

\* Détection et identification des Protéines monoclonales, des Dysglobulinémies

\* Dépôt de l'Immunoserum polyclonal (SM) \* Autres bandes de produit d'antiserum spécifique

\* Diffusion et Coloration qui induit la présence de «bande bleue» au niveau Gamma Globulines, antiGamma et antiLamda. Il Existe des Ig à chaîne lourde Gamma (Ig. G) et à chaîne légère Lamda

\*\* ADK 06/07/04 ADK 08/03 \*\*

## LES REACTIONS D'IMMUNOMARQUAGE

### INTRODUCTION

Pour révéler une réaction Ag-Ac primaire, il faut faire appel à des systèmes de marquage de l'un ou de l'autre élément de la réaction, ceci en utilisant différents marqueurs: fluorochrome, enzymes, isotopes radioactifs ...

**Objectifs** : - Définir la réaction d'Immunomarquage - Décrire les méthodes.

- Schématiser les techniques - Citer les applications des tech IM en biologie clinique - Les marqueurs

### I/ - ASPECTS FONDAMENTAUX

#### A/ - PRINCIPE

La réaction **Ag-Ac** n'est pas toujours visible comme au cours de la précipitation ou l'agglutination, la réaction d'ImmunoMarquage (I.M.) se déroule suivant deux (2) types :

- la réaction Ag-Ac spécifique - la réaction non spécifique consistant à révéler le couple **Ag-Ac**

#### B/ - COUPLAGE

C'est le fait de fixer un marqueur sur l'**Ag** ou l'**Ac** sans modifier ses propriétés biologiques, les techniques utilisées pour le couplage dépendent de la nature du marqueur

\*\*\* L'on peut aussi «conjuger un corps»: **Ag** ou **Ac** marqué, n'intervenant pas directement dans la mise en évidence de la réaction **Ag-Ac** mais, permettant de la visualiser

#### C/ - LES MARQUEURS leur nature dépend du système de révélation utilisé

##### **C.1/ - Les Enzymes:** marqueurs des réactions Immunoenzymatiques **EIA** (E. Immuno Assay)

Elles sont capables de donner en présence d'un substrat une «réaction colorée».

En fonction de la nature du substrat enzymatique utilisé, le produit de la réaction est mesuré soit par «colorimétrie» avec simple examen visuel soit par «spectrophotométrie» à la longueur d'onde précise, soit par «fluorimétrie». Les différents exemples d'enzymes sont : la *Peroxydase* ( avec comme substrat le **TMB**: TétraMethylBenzidine), la *Phosphatase alcaline* ( avec la **PNPP** ou la Para NitroPhenylPhosphate), la *Béta Galactosidase* ( avec l'**ONPG**: OrthoNitroPhényl béta Galactoside) et la *Glucose Oxydase* ( avec leGlu-6-P et le NAD)

##### **2/ - Les Fluorochromes** : marqueurs des réactions d'ImmunoFluorescence (**RIF**)

Ce sont des corps chimiques capables d'émettre une fluorescence sous l'action d'une lumière ultra-violette excitante (laser). Les plus utilisés sont: la **FITC** ou l'*IsoThioCyanate de Fluoresceine* qui induit une fluorescence «verte», la *Rhodanine* qui donne une fluorescence «rouge» et, la **PE** ou *PhycoErythrine*.

La lecture peut être réalisée par différentes techniques: avec un Microscope à fluorescence, un Cytomètre à flux ou un Fluorimètre

##### **3/ - Les Isotopes Radioactifs** : marqueurs des réactions RadioImmunologiques (**RIA**).

Ce sont des atomes capables d'émettre des rayons qui seront captés et mesurés par les appareils tels le compteur Müller-Geiger Les plus utilisés sont : l'*Iode 125* et le *Tricium 3H*

### II/ - METHODES

Suivant le marqueur utilisé, les méthodes sont semblables, les réactions d'Immuno-marquage permettent de détecter ou de doser un **Ag** ou un **Ac**

#### A/ - Les Methodes Directes

**1/ - Principe** : Elles consistent à marquer un élément de la réaction **Ag-Ac** qui servira de réactif elles sont très utilisées en **IFD** : ImmunoFluo. Directe mais non utilisées en EIA et RIA car coûteuses

##### **2/ - Applications** : - Phénotypage Lymphocytaires ( détermination du taux de CD4+ et CD8+)

- Immunocytochimie - Identification de microorganismes

**B/ - Les Methodes Indirectes****1/ - Principe :**

C'est une méthode comprenant deux (2) réactions Ag-Ac, l'Ac réagit par ces 2 parties **FAB** et **Fc**  
 - La partie **FAB** se lie à l'Ag spécifique (réactif ou élément à doser) - La partie **Fc** se lie à une  
 AntiGlobuline polyvalente ou spécifique sur laquelle est fixé le marqueur (ou le conjugué)  
 La réaction a lieu en phase solide quand un des réactifs est fixé sur un support: billes, tubes ou plaques  
 de polystyrènes. Elle comprend une série de lavage entre les deux réactions **Ag-Ac** afin d'éliminer les  
 réactifs non fixés. Ces méthodes indirectes sont très utilisées en EIA et IFI, elles sont moins couteuses  
 car un même antiGlobuline permet de détecter plusieurs réactions **Ag-Ac**, ces réactions permettent de  
 détecter un **Ac** ou un **Ag**

Cf : Schéma

**2/ - Applications:** \* Sérodiagnostic des Infections Microb. \* Rech d'AutoAc pdt  
 des maladies autoimmunes \* Phénotypage Lymphocytaire

**C/ - Les Methodes Sandwich**

Ce sont celles utilisées en **EIA** et en **IFI** qui ont lieu en phase solide, elles comprennent  
 aussi deux réactions **Ag-Ac** et permettent de mettre en évidence aussi bien des **Ac** que des **Ag** à  
 condition que ces derniers aient au moins deux (2) épitopes Cf Schéma

- **Application :** SéroDiagnostic des infections microbiennes

**D/ - Les Methodes par Capture** Ce sont des méthodes utilisées en **EIA**

Le principe associe seul les réactions indirectes et Sandwich; elles permettent de rechercher  
 les **IgM** dans un prélèvement. Dans un 1<sup>er</sup> temps ces IgM sont capturés au niveau de leur partie  
 Fc par des Ac AntiIgM fixés sur la phase solide pendant que leur partie Fab réagit avec l'Ag  
 marqué par une enzyme ( le conjugué ) Cf Schéma

- **Application :** Sérologie de la Toxoplasmose et du VIH

**C/ - Les Methodes par Compétition**

Elles sont très utilisées en **EIA** et **RIA**, elles permettent de détecter et de doser un **Ag** ou un **Ac**

**1/ - Recherche d'un antigène : Ag**

On fait réagir une quantité définie (limitée) de l'Ac spécifique de l'Ag recherché avec ce  
 dernier et une quantité donnée d'Ag marqué (Ag\*) identique à l'Ag recherché. Il y a donc une  
 « compétition » entre Ag recherché et Ag marqué par la fixation sur l'Ac

Ensuite l'on sépare la fraction liée Ac-Ag marqué (Ac-Ag\*) de la fraction libre Ag\* par  
 différentes techniques ( insolubilisation par sulfate d'ammonium, utilisation d'antiGlobuline en  
 RIA, simple lavage en EIA ) Le signal de la fraction liée est inversement % à la quantité d'Ag  
 recherché  $Ac + Ag + Ag^* \rightleftharpoons Ac-Ag^* + Ac-Ag$  Cf : Schéma

**Appli. :** \* Dosage de l'insuline, de vitamine, d'hormones \* Identification d'Ag microbien

**2/ - Recherche d'un Ac basé sur le même principe  $Ag + Ac + Ac^* \rightarrow Ag-Ac + Ag-Ac^*$** 

Après la séparation de la fraction liée (Ag-Ac\*) de la fraction libre Ac\*, le signal de  
 la fraction liée est inversement proportionnel à la quantité d'Ac. recherché

**Appli. :** \* Sérodiagnostic des infections bactériennes Cf : Schéma

**PS : La Méthode ELISA** ( Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay ) est une réaction  
 Immuno-Enzymatique par compétition en phase solide: la première méthode EIA décrite en 1971  
 fut d'un grand intérêt dans le Serodiagnostic du VIH; par abus de langage toutes les réactions  
 EIA portent le nom ELISA

**Le Western Blot :** est une méthode d'Immunotransfert ou Immuno-Blot, utilisée pour  
 étudier la spécificité des **Ag** ou des **Ac** correspondants. On effectue une séparation des Protéines  
 d'un microorganisme par électrophorèse sur gel de polyacrylamide puis, un transfert des  
 différentes fractions sur membrane de nitrocellulose. Il est alors possible de déceler les protéines  
 en utilisant des **Ac\*** marqués par une enzyme : étude spécifique d'un Ag

**Application :** Sérodiagnostic des infections VIH

\*\* ADK 05/07/04 ADK 06/03 \*\*



## GENERALITES SUR LES TECHNIQUES IMMUNOLOGIQUES

### INTRODUCTION

#### I/ - LIAISON ANTIGENE – ANTICORPS (Ag-Ac)

##### 1/ - Caractéristiques

a/ - Exothermie                      b/ - Réversibilité                      c/ - Spécificité

##### 2/ Aspects

a/ - Aspects Qualitatifs : → Affinité                      → Avidité

b/ - Aspects Qualitatifs

#### II/ - CLASSIFICATION DES REACTIONS Ag-Ac

##### 1/ - Réactions Ag-Ac visibles

\* R. de Précipitation    \* R. d'Agglutination    \* R. utilisant le Complement

##### 2/ - Immunomarquage

\* R. RadioImmunologique    \* R. ImmunoEnzymatique    \*R. ImmunoFluorescence

### CONCLUSION

Les caractéristiques de la liaison **Ag-Ac** permettent d'avoir plusieurs techniques utilisées aussi bien en immunologie que dans d'autres disciplines.

=====

## LES REACTIONS D'AGGLUTINATION

### INTRODUCTION

#### I/ - ASPECTS FONDAMENTAUX

##### A/ - Théorie de Pollack

##### B/ - Facteurs influencant les réactions d'Agglutination

1/ - La nature de l'Ag

2/ - La nature de l'Ac

3/ - Le potentiel Zéta

4/ - Conditions du milieu réactionnel

#### II/ - METHODES DES REACTIONS D'AGGLUTINATION

##### A/ - Agglutination active ou directe

##### B/ - Agglutination passive ou induite

Il y a 3 techniques de fixation de l'Ag sur la particule

\* Simple contact Ag-Particule

\* Voie chimique

\* Voie immunologique

#### III/ - AGGLUTINATION ARTIFICIELLE

- Les Macromolécules : \* Albumine \* Dextran \* Ficall

- Les Enzymes Protéolytiques : \* Trypsine \* Papaïne \* Bromeline

- Les Anti-Globulines → Test de Coombs

#### IV/ - INHIBITION DE L'AGGLUTINATION

# LES REACTIONS D'IMMUNOPRECIPITATION

## INTRODUCTION

### I/ - ASPECTS FONDAMENTAUX

**A/ - Methode d'Helderberg et Kendall**

**B/ - Théorie de Marrack**

**C/ - Facteurs influencant l'immunoprécipitation**

- 1/ - Les F. spécifiques: \* Affinité de l'Ac pour l'Ag \* Concentrations représentatives des Ac et Ag  
 2/ - Les F. non spécifiques : \* l'Agitation qui accélère la précipitation \* Ph \* Force ionique  
 \* Durée d'incubation \* Présence d'agents interférents dans la réaction: *Dextran, Polyéthylène glycol ...*

### II/ - REACTIONS D'IMMUNOPRECIPITATION EN MILIEU LIQUIDE

**A/ - Réaction Qualitative : Ring Test = Test de l'anneau**

- 1/ - Principe  
 2/ - Applications : \* Sérotypage de Langfield \* Suivi de la production d'Ag chez les animaux

**B/ - Réactions Quantitatives**

- 1/ - Methode d'Heidelberger et de Kendall      2/ - Nephelométrie      3/ - Turbidimétrie

### III/ - REACTIONS DE PRECIPITATION EN MILIEU GELIFIE

**A/ - Methode de Diffusion Simple**

1/ - Technique de OUDIN

- a/ - Principe  
 b/ - Applications: \* Dosage de l'Ag % à courbe d'étalonnage \* Séparation de ++ systèmes de PP  
 2/ - Immunodiffusion Radicale = methode de MANCINI

a/ - Principe: méthode qualitative d'Immunodiffusion simple bidimensionnelle

- b/ - Applications : \* Dosage des Protéines \* D. Fct des Cplmt \* D. des alpha Foetoprotéines  
 3/ - ElectroImmunodiffusion = méthode de LAURELL

**B/ - Methodes de Diffusion Double**

1/ - La Technique d'Ouchterlony

- a/ - Principe : technique qualitative d'Immunodiffusion double bidimensionnelle  
 b/ - Applications: \* Détermination du nombre de constituants antigénique avec plusieurs Ac  
 \* Précision des spécificités d'un Ac contenu dans un Antiserum \* Identification des Epitopes d'un Ag  
 2/ - Electrosynerèse  
 a/ - Principe : méthode d'Immunodiffusion double  
 b/ - Application: \* Détection similaire d'un Ag et d'un Ac dans un échantillon Ex: Ag Hbs/ Ac AntiHbs  
 3/ - ImmunoElectrophorèse = méthode de GRABAR  
 a/ - Principe: technique qualitative comparative combinant une separation électrophorétique  
 à une immunodiffusion double en gel  
 b/ - Application: Etudes des DysProtéinemies Ex Dysgammaglobulemie dans la maladie de Waldenstrom

### IV/ - REACTION D' IMMUNOFIXATION

- a/ - Principe : technique qualitative proche de l'Immunoélectrophorèse  
 b/ - Application: \* Détection et identification des protéines monoclonales, des Dysglobulinémies  
 \* Utilisée en complément de l'Immunoélectrophorèse.

## LES REACTIONS D'IMMUNOMARQUAGE

### INTRODUCTION

#### I/ - ASPECTS FONDAMENTAUX

**A/ - Principe**

**B/ - Couplage**

**C/ - Les Marqueurs**

1/ - Les Enzymes      2/ - Les Fluorochromes      3/ - Les Isotopes radioactifs: \* Iode 125 \* Tricium

#### II/ - METHODES

**A/ - Les Methodes Directes**

1/ - Principe

2/ - Applications : \* Phénotypage Lymphocytaires ( détermination du taux de CD4+ et CD8+)

\* Immunocytochimie \* Indentification de microorgannismes

**B/ - Les Methodes Indirectes**

1/ - Principe

2/ - Applications : \* Sérodiagnostic des infections microbiennes

\* Recherche d'autoanticorps pendant des maladies autoimmunes \* Phénotypage Lymphocytaire

**C/ - Les Methodes Sandwich**

**D/ - Les Methodes par capture**

**C/ - Les Methodes par compétition**

1/ - Recherche d'un Ag

2/ - Recherche d'un Ac

=====

## - LES REACTIONS DE NEUTRALISATION

**A/ - Principe de la Methode**

**B/ - Applications :** \* Titrage des ASLO = AntiStreptoLysine O

\* Serodiagnostic des infections virales par inhibition de l'hémagglutination

=====

## LES REACTIONS DE FIXATION DU COMPLEMENT

## IMMUNITE ANTI-TUMORALE : QUESTIONS / REPONSES

### 1/ - Aspect théorique de l'immunosurveillance:

- \* Lyse des cellules cancéreuses par les cellules NK \* Théorie de la surveillance immunitaire (SI)  
 2/ - Lyse de cellules K par les cellules NK Les cellules NK ont été découvertes par leur propriété de lyser une cellule cancéreuse: l'Erythroleucémie K 562 dépourvue de CMH1 et CMH2. de là on peut imaginer que les cell. NK pourraient tuer les cell. cancéreuses dépourvues de molécule de classe I CMH ou porteuse de molécules altérées

### 4/ - Théorie de surveillance immunitaire de Burnet:

- Le SI reconnaît et élimine les cell. K quand elles sont produites. - Les cell. K qui échappent à la S. immunitaire sont à l'origine de cancer - L'activation du SI peut résoudre la destruction des cell. K

### 5/ - Chez l'animal : Transfert adoptif de la tumeur de Winn

- Ex 1: Transfert de Lymphocyte d'un animal avec tumeur à un autre avec tumeur → Aucune réponse  
 - Ex 2: Greffe d'une tumeur et transfert de lympho d'un animal normal à un autre → Prise de la tumeur  
 - Ex 3 : Greffe d'une tumeur et, transfert de lymphocyte d'un animal avec tumeur à autre animal normal → Pas de prise de tumeur  
 - Ex 4: Greffe d'une tumeur et, transfert de serum d'un animal avec tumeur à un animal normal → Prise de la tumeur

**Conclusion:** cela suggère, la présence de cellules à activité antitumorale de l'animal porteur de tumeur

### 6/ - Inhibition de l'immunité antitumorale

Des essais expérimentaux réduisant la masse tumorale ont permis d'obtenir, une augmentation de la tumeur après l'injection de lymphocytes cela veut dire que les cellules antitumorales sont dépassées, quand la tumeur atteint une certaine virulence ou, que ces cellules pourraient être inhibées par des Ac. facilitants

### 7/ - Constats cliniques chez l'homme

- Des sujets atteints de déficience immunitaire en facteur T (thymus) congénitaux ou issue : d'irradiation, d'infection virale (EBV), de traitement immunosuppresseur développent une fréquence d'augmentation de cancers. Exp: Sujet déficient en cellule NK (Maladie de Chediak-Higashi) ont une fréquence anormale de K. Ex : Le BCG, *Corynebacterium* ont été utilisés pour stimuler l'immunité cellulaires cancéreuses vis à vis du cancer de la vessie

### 8/ - La plus importante des cellules à participer à l'immunité naturelle antitumorale

- \* Les plus importantes sont: les cellules NK \* Les Lymphocytes \* Les Macrophages  
 \* Les PNE intervenant dans le phénomène ADCC et, la synthèse de Cytokines IL2,4,5

### 9/ - Les substances contenues dans les granules des cellules NK: \* Perforine \* Granzymes

### 10/ - La mort des cellules cibles: - Apoptose (mort programmée) – Nécrose sans dégâts

- 11/ - La réponse immunitaire spécifique Comme cela se passe dans la R.I. générale contre les agents infectieux, l'induction de la R.I. tumorale nécessite l'activation : \* des LymphoT Helper \* des CD4+ et exprimant des Ag tumoraux en association avec les molécules de classe II du CMH

12/ - Modes d'action des LT Helper: - Les LT Helper 1 dans la coopération cellulaire stimulent la prolifération des Lymphocytes T Cytotoxiques par les Cytokines: IL2, INF, TNF ; qui vont activer la cytotoxicité CMH dépendante et accélérer la cytotoxicité directe dépendant des cell. NK

### 13/ - Expérimentation et différenciation des LT cytotoxiques

Elles nécessitent une présentation de l'Ag tumoral associé aux molécules de classe I du CMH; cependant les lympho T cytotoxiques sont rarement mis en évidence chez les malades atteints de cancer et leur présence n'est pas toujours associée à une régression tumorale : ceci est dû à la présence d'un mécanisme d'échappement de la tumeur à la R. I. de l'hôte

- 14/ - Mécanismes d'échappement (6) : - Acquisition de molécules modifiant la capacité statique Ex CD44  
 - l'Immunogénicité de la tumeur est liée à son volume, si elle est de petite taille elle échappe au SI  
 - Blocage ou suppression issu des Ac de forte affinité Ex: Ac AntiIdiotypes: incapacité de reconnaissance immunologique - Production de substances inhibitrices Ex TGF bêta  
 - Perte des molécules d'adhésion des Lymphocytes Ex LFA1 K de Burkitt

## L'IMMUNITÉ DE GREFFE: QUESTIONS / REPONSES

### 1/ - Définitions : Greffe./ Greffon

«Grefe» : transfert d'un organe ou d'un ensemble de tissu d'un organisme dit «donneur» vers un organisme dit «receveur» de la même espèce (Allogrefe) ou d'une autre espèce ( Xénogrefe )

«Greffon»: organe, tissu ou cellule à greffer

### 2/ - Les différentes catégories de greffes

- **Grefe syngénique** ou **Isogrefe**.: greffe réalisée chez des individus génétiquement identiques: jumeaux homozygotes, l'on n'a pas de rejet
- **Autogrefe** ou **G Autologue**: Le «D» correspond au «R» (greffe de peau / moelle osseuse) pas de rejet
- **Allogrefe**: «D» génétiquement différent du «R» mais qui appartient à la même espèce: l'on a un rejet s'il existe un phénomène d'histocompatibilité au niveau des gènes
- **Xénogrefe**: «D» et «R» sont génétiquement différents et des espèces différentes, l'on a toujours un rejet

### 3/ - Sort des greffes : Les lois de greffe de SNELL

- a/ - Les Autogreffes et Isogreffes ne sont jamais rejetées/ - Les Xénogreffes sont généralement rejetées
- c/ - Les Allogreffes sont généralement rejetées en cas d'incompatibilité entre le donneur et le receveur
- d/ - La greffe d'une lignée parentale à un individu F 1 est toujours bien tolérée alors que celle de l'individu F 1 à la lignée parentale est toujours rejetée
- e/ - La Greffe entre deux hybrides est toujours tolérée
- f/ - La greffe d'une lignée parentale à un individu F 2 peut prendre dans 3/4 des cas
- g/ - Les greffes de F 1 à F 2 sont tolérées dans 1/3 des cas, celles de F2 à F1 sont toujours rejetées

### 4/ - Classification des rejets

- a/ - Rejet subaigu**: intervient quelques minutes ou, heures après
- b/ -Rejet aigu** : 10 jours après
- c/ - Rejet chronique** : au delà de dix (10) jours après la greffe. Une greffe sans rejet est caractérisée par une revascularisation dès le 3<sup>ème</sup> jour, et une prise de la greffe au 3<sup>ème</sup> jour.

### 5/ - La phase d' induction La RI est induite par les Ag d'histocompatibilité

Les Ag les plus immunogènes sont: \* les Ag. majeurs du complexe d'histocompatibilité : **HLA 1** et **HLA 2** \* les Ag. mineurs: Ag. des systèmes ABO, Rhésus, Kell, Duffy ect ...

### 6/ - Les stimulants de la RI: \* Cellules du greffon ( exprimant Ag d'histocomp de cl 1 et 2 )

- \* Cellules dendritiques ( peau, diff organes/Fibroblastes) \* Cellules de Langerhans \* Leucocytes passagers
  - \* Macrophages qui portent à leur surface les mol. HLA1 présentées au LT8 et les HLA2 au CD4
- Les *LT* ayant reconnus les Ag du greffon vont s'activer, proliférer et produire les «Cytokines»

### 7/ - La phase effectrice :

- \* Réponse cellulaire spécifique \* Réponse cellulaire non spécifique \* Réponse humorale

**8/ - La réponse cellulaire spécifique** Les *LT* cytotoxiques vont détruire les cellules du greffon par la reconnaissance des Ag. HLA 1, parfois de classe 2 et ceux-ci par «cytolyse». Les *LT* cytotoxiques sont naïfs au départ et, n'ont leur effet cytotoxiques qu'après l'action de IL 2 ou INF gamma ou TNF

**9/ - La réponse cellulaire non spécifique** Les cellules tueuses non spécifiques comme les cellules NK, Macrophage, PNE, PNN stimulées par les cytokines: IL2, IL5 ou IFN gamma participent à la lyse des cellules du greffon par le phénomène ADCC La réponse cellulaire est responsable du rejet aigu qui survient dans les dix (10) jours ap la greffe

### 10/ - La réponse humorale : elle est issue de l'action des Alloanticorps

Elle est constituée par l' action des AlloAc issus de l' **Ac** du receveur contre **Ag** du greffon, l'on a activation : - du système du complément par voie classique qui induit la destruction du greffon - et des cellules cytotoxiques NK des macrophages , PNE,PNN qui entraînent une destruction du greffon par le phénomène ADCC

Cette réponse humorale est responsable du rejet sub-aigu: réponse de type «Arthus»  
Les **Alloanticorps** interviennent lors des greffes, des grossesses non compatibles, des transfusions

**11/ - Caractères des rejets de greffe hyper aigu** : marqués par des lésions ischémiques car les Ac. en se fixant sur l'épithélium vasculaire active le système du complément et de la coagulation

**12/ - La phase de régulation** : elle est assurée par les cytokines produites par les LT et les Macrophages qui fournissent : a/ - IL 1,2,3 b/ - Facteur de croissance des LT c/ - IFN Gamma d/ - Facteur de croissance LB e/ - TNF alpha f/ - IL8 (sécrétées par les cell endothéliales)

**13/ - Le GVH : Graft Versus Host**

Il peut être considéré comme l'inverse ou le symétrique de la réaction du rejet de greffe que l'on retrouve généralement lors de greffe de tissus riches en cellules immunocompétentes (LT): moelle osseuse (MO), tissus digestifs

**14/ - GVH aiguë** : elle apparaît au environ du 30<sup>ème</sup> jours après la greffe et peut évoluer vers une GVH chronique après le 100<sup>ème</sup> jours; caractérisée par une cirrhose, une sclérodémie

**15/ - Circonstances favorisantes** : En cas d'Allogreffe de la moelle osseuse, d'Allogreffe du tissu digestif et, de transfusion chez malade atteint de la maladie de Hodgkin

**16/ - Sélection du meilleur donneur (7 caractères)** Meilleur donneur = Soi même, jumeau, parent

- Succès d'une Allogreffe dépend de l'importance des différences entre les Ag d'histocompatibilité du «D» et ceux du «R». Plus la similitude est grande, plus la greffe a des chances de prendre

- Meilleur donneur: c'est un parent proche ou soi même - Compatibilité au niveau des Ag Mineurs

- On peut prendre des «D» non parentés qui présentent des identités des HLA, A, B, DR ..

- Cependant les incompatibilités au niveau des mol HLA ne constituent pas une contre-indication quand le «Cross-match» est identique - Le Greffon doit subir un traitement spécial

- Il faut réaliser chez le «D» des sérologies HIV, Hépatite B, C, CMV

**17/ - Conditionnement du greffon** - Le débarrasser de sang - Conservation au froid (N2 liquide) - Dans Autogreffe de moelle osseuse, traitement du greffon par les Ac monoclonaux anticellulaires tumoraux

**18/ - Analyses pour préparation du receveur**

a/ - Typage HLA et phénotypage érythrocytaire

b/ - Recherche d'Anticorps préformés : \* Si Ac = Ig M → Greffe \* Si Ac = IgG → Pas de greffe

c/ - Le CrossMatch d/ - Réaction lymphocytaire mixte e/ - Traitement immunosuppresseur

**19/ - Le CrossMatch**

C'est une épreuve de compatibilité lymphocytaire: Test réalisé sur un serum dit de quatre (4) jours par la technique de microlymphotoxicité. L'on met en présence le serum du «R» et les lymphocytes du «D». En cas de formation d'immunocomplexe, le complément apporté par la suite provoque la lyse des lymphocytes - Si le CM est positif (+), l'on peut réaliser une transplantation d'organes: rein, pancréas

**20/ - La RLM : Réponse lymphocytaire mixte**

- **Principe**: la mise en culture de deux types de lymphocytes ayant des Ag HLA de classes différentes, conduit à leur prolifération en cellules blastiques: cette prolifération est maximale après six (6) jours.

- **Technique**: on mesure la prolifération des cellules dites repondantes, qui sont marquées au niveau de leur ADN par la Thymine titré, cultivée en présence de cellules stimulantes qui sont irradiées c'est à dire qui ne peuvent plus proliférer. On mesure la présence des LT receveur face aux Ag.

exprimés sur les lymphocytes du donneur \* A = LT Repondeur \* B = L stimulants irradiés

\* Réaction Positive (+) : l'on a une prolifération des cellules de A différente de B

\* **Réaction Négative (-)** : l'on n'a pas de prolifération des cellules (A=B) la transplantation est possible

**21/ - Traitements immunosuppresseurs** :

Ce sont les Corticoïdes, les Radiothérapies, les Anticancéreux, les Cyclosporines, l'Azotropine, les Anticorps monoclonaux (traitement spécifique) ... Ce traitement permet de réduire la RI au cours de la greffe et sert d'éviter la RI vis à vis des Ag Mineurs

**\*\*CONCLUSION\*\***

La seule issue de certaines maladies étant la greffe, il est important de connaître les mécanismes immunologiques pouvant intervenir au cours des transferts d'organes

\*\*\* ADK 10/04 ADK 70/07/02 \*\*\*

<b>EPREUVES D'IMMUNOLOGIE Q.C.M./ Q.R.O.C</b>
---

### I/ - REpondre par Vrai ou Faux

- 1/ - Les Cell. des organes lymphoïdes centraux peuvent circuler d'un organe à l'autre : **Faux**
- 2/ - Les **Macrophages** reconnaissent de façon non spécifique l'antigène : **Vrai**
- 3/ - Les **LT4** reconnaissent les exo Ag. associés aux molécules ALA de classe II : **Vrai**
- 4/ - L'**activation** des **Granulocytes** par l'Ag requiert la présence de l'**IL2** : **Faux**
- 5/ - Le Recherche de Rhésus standard ( Ag D ) utilise la tech. d'agglutination artificielle: **Vrai**
- 6/ - Au cours d'une infection, la présence d'**Ig M** est le signe d'une infection chronique. : **Faux**
- 7/ - Les **LB. Mémoires** ont une **durée de vie plus longue** que les **LT Mémoires** : **Faux**
- 8/ - L'action de la CycloOxygenase sur l'acide arachidonique aboutit aux Prostaglandines : **Vrai**
- 9/ - La 1ère barrière antivirale du système immunitaire est formée par les Ac. : **Faux (ITF/TNF)**
- 10/ - *Mycobacterium tuberculosis* est une bactérie résistante à la phagocytose : **Vrai**
- 11/ - De faibles ou fortes doses d'Ag. stimulent préférentiellement les **LTH**
- 12/ - La **Xeno greffe** provoque toujours un rejet de greffe : **Vrai**
- 13/ - Le **Cross-mach** permet de rechercher les **Ac. du donneur** de greffon dirigé contre les **Ag. HLA du receveur** ( *Vrai plutôt pour le contraire* ) : **Faux**
- 14/ - Le **Stress** a une action amplificatrice sur la réponse immunitaire : **Faux**
- 15/ - Les **LT amplificateurs** sont généralement **CD.8** : **Faux**
- 16/ - L'**Histamine** est un médiateur de l'inflammation : **Vrai.**
- 17/ - Les **Ac. bivalents** sont précipitants : **Vrai**
- 18/ - L'**Agglutination active** fait intervenir les **Ag. particuliers** : **Vrai**
- 19/ - Un des noyaux effecteurs du S.I. est **la rate** : **Vrai**
- 20/ - Les **Cellules de Langerhans** sont les Macrophages du **pancréas** : **Faux**
- 21/ - Les **Ig G.** sont plus agglutinants que les **Ig.M** : **Faux**

### II -/ - ENTOURER LA ( LES ) BONNES REPONSES

- 1/ - La molécule qui traduit le signal antigénique des LB est :  
a/ CD.3                      **b/ RFc Ig.**                      c/ CR3                      d/ Inexistante
- 2/ - Les substances indispensables à l'activation des LT sont ( **CD3 / IL1 / IL6** )  
a/ IL1, 2 3,4,6              b/ GRCSF              c/ IFN gamma              d/ TNF
- 3/ - Parmi les substances suivantes, les **opsonines** sont :  
a/ CR1    b/ **C3b**              c/ **C4b.**    d/ Lipopolysaccharides    e/ IgA.              f/ **Ig G.( +/-)**    h/ C5a.
- 4/ - Une infection par les **helminthes** induit une production préférentielle de :  
a/ Ig.G              b/ Ig. M.              c/ Ig.A.              **d/ Ig.E**
- 5/ - Au cours de la maladie hémolytique du nouveau né; le **test de Coombs direct** permet de mettre en évidence : a/ Les **Ac. fixés in vivo**    b/ La spécificité de l'AC    c/ Les Ag G.  
\* Test de Coombs indirect permet la mise en évidence des Ac. libres chez la Mère
- 6/ - L'Affinité d'un Ac pour un Ag caractérise :  
**a/ la rapidité de la formation de l'Immun -complexe**    **b/ L'intensité des forces de liaison de l'Immun complexe \*\*\***              c/ La spécificité de l'Ag. pour l'Ac.
- 7/ - Les Vaccins oraux suscitent la production préférentielle de :  
a/ Ig. G              b/ Ig.M.              **c/ Ig.A**              d/ Ig. E

\*\* ADK 2004

ADK 2001 \*\*

### III/ - REPONDRE SUCCINTEMENT AUX QUESTIONS

- 1/ - Les Cellules de la 3<sup>ème</sup> population lymphocytaires sont : **KL, K, LAK**
- 2/ - **Rôle des BCGF** et donnez en des exemples ( 3 ) \* IL 2,4,5 → prolif LB \*Act. des Ig
- 3/ - Citer quatre cellules pouvant présenter l'Ag aux LT  
\* **Cell. Dendritiques** \* **L.B. / LT** \* Plaquettes \* Macrophages \* Cell de Langerhans
- 4/ - Citer deux **conséquences** immuno-pathologiques des **infections virales**  
\* Granulonephrites \* Cytopenie \* Maladies auto-immunes
- 5/ - Y-a-t' il une **différence** entre la **Phagocytose des Granulocytes** et celle des **Macrophages**, si oui la quelle ? \* Macrophages à 90% \* Granulocytes à 100%
- 6/ - Citer cinq (5) **cellules intervenants dans l'inflammation** :  
PNN, PNB, PNE, Fibroblastes, Macrophages, Monocytes, Lymphocytes , Plaquettes
- 6'/ - Rôle de la **Bradykinine** au cours de l'**inflammation** ? ( Œdème inflammatoire )
- 7/ - Quels sont les principaux **Ag. impliqués dans un rejet de greffe** : **Ag HLA**
- 8/ - Citer quatre (4) **facteurs humoraux** et préciser deux de leur **action dans la R.I.**  
\* **Ig.** \* **Cytokinines** \* **TNF** \* **INF**
- 9/ - Préciser la différence entre la **R.I.** primaire d'un **Ag. Thymodépendant** et celle d'un **Ag. Thymo-indépendant** : \* **RI 1 Ag Thymodep.** → **Ig M** prédominant + d'autres **IgE**  
\* **RI 1 Ag. Th-indep** → uniquement **AgM** : réponse précoce + faible; activation/LPS Paroi Bact.
- 10/- Donner quatre (4) **différences** entre la **Précipitation** et l'**Agglutination**
- 11/ - Par quel mécanisme l'injection d'Ac. Anti D permet de **prévenir la maladie hémolytique du nouveau-né** ( injection à la Mère )
- 12/ - Expliquer le **mécanisme** de survenue des signes cliniques observés lors de la **rupture d'un kyste hydatique.**
- 13/ - Décrire le **mécanisme du rejet de greffe aiguë**  
\* Les éléments intervenant dans le phénomène de R. A. d'Allogreffe sont: LT/ LB/ PN / Pq.
- 14/ - **Définir la greffe** : syngénique , allogénique; autologue, hétérotropique  
- Cocher la ou les greffes qui n'entraînent pas de phénomène de rejet :  
\* **G. Autologue** \* G. Allogénique \* **G Syngénique.** \* G. Xenogénique \* G. Hétérogénique
- 15/ - Nommer et décrire l'**action cytotoxique des LT effecteurs**
- 16/ - **IFD : Schéma du principe**
- 17/ - Le **Test de Combs** repose sur la mise en évidence de :  
\* Fragments de clivage \* GR foetaux \* Cytokinines \* **Ac irréguliers**
- 18/ - L'**Allo-immunisation** survient dans trois conditions qui sont :  
la grossesse, la transfusion incompatible et la vaccination°
- 19/ - Citer quatre (4) **théories d'Auto-immunité**
- 20/ - Citer trois (3) **cellules intervenants dans la RI aux Ag. Thymodépendants**
- 20'/ - Cocher les **cellules** qui interviennent dans la **réaction Thymo-independante** :  
\* Monocytes \*LTCD4+ \*LT CD8 \*LB \* Macrophages
- 21/ - Citer trois (3) exemples intervenant dans l'**activité cytotoxique des LT : CD8+**
- 22/ - Enumérer les trois (3) **mécanismes d'action des Ac.** au cours des **réponses humorales** de défense de l'organisme
- 23/ - Enoncer les trois conditions d'activation de l'Ag. pour induire une tolérance immunitaire

- 24/ - Citer les cellules **médiatrices dans la R.I.**: \* LB activées / LT Cyto. / Monocytes / Macro  
 25/ - Citer les **cellules cytotoxiques** : MacroPhages, LT, - **Cell NK** : cell destructrice d'Ac.  
 26/ - Les **I.L. sont sécrétées** par : \* **Monocytes-Macrophages** / \* CPA / \***Lympho.**/\*Plasmocytes  
 27/ - La **phase effectrice de la R.I.** est sous la dépendance des :  
 \* L. Producteurs d'InterLeukine (IL)\* **L. Cytotoxiques** \* **Plasmocytes** → d'Ac. \* Ac
- 29/ - La **Régulation non spécifique de la R.I.** est sous la dépendance des facteurs non spécifiques sécrétés par : \* LB \* Macrophages \* Ac. Anti-idiotypiques
- 30/ - Les **Ac Anti-idiotypiques** jouent un rôle important dans :  
 \* La Coopération \* La régulation non spécifique \* La Production de complément simple
- 31/ - Les barrières naturelles intervenant dans la **défence non spé. anti-infectieuse**  
 32/ - Les **facteurs humoraux non spé.** intervenant dans la défense anti-infectieuse  
 33/ - La **réaction ADCC** est observée par les : **CK** , LT CD8 , **Macro/Mono** , LB, GR  
 34/ - Les **cellules K** présentent les caractéristiques suivants : \* Présentes dans le Thymus  
 \* Possèdent les CD16 \* N'ont pas de récepteur pour les GR de Mouton

## IMMUNOLOGIE : QUESTIONS / OBJECTIFS

### SYSTEME IMMU. / IMMUNITE ANTI-INFECTIEUSE / IMMU DES GREFFES

- 1/- Décrire le mécanisme de reconnaissance de l'Ag.
- 2/ -Enumérer les effecteurs humoraux et cellulaires
- 3/ - Faire la différence entre la RI des Ag. Thymodépendants et celle des Ag Thymo-independants
- 4/ - Préciser le mécanisme d'Action des effecteurs de S.I.
- 5/ - Enumérer les différents moyens de régulation de la R.I.
- 6/ - Préciser le rôle des Ac. et des Cytokinines dans la régulation

- 1/ - Préciser les effecteurs de la réponse antivirale
- 2/ - Effecteurs de la réponse anti-bactérienne
- 3/ - Effecteurs de la réponse anti-parasitaire
- 4/ - Les conséquences immunopathogènes

- 1/ - Classification des greffes
- 2/ - Préciser le mécanisme du rejet de greffe
- 3/ - Définir et expliquer le Graft-Versus-Host
- 4/ - Les mesures de prévention du rejet

### INFLAMMATION :

- 1/ - Définition de l'inflammation
- 2/ -Expliquer l'app. des signes cliniques caractéristiques
- 3/ - Enumérer les cellules du Granulome
- 4/ - Enumérer les médiateurs
- 5/ - Décrire leur mécanisme d'action

**P.A.F**

- : \* Aug. Perméabilité  
 \* Agregation Plaquettaire  
 \* Diapèse

### **PhosphoLipides Membranaires**

#### \*PosphoLipase A2

\* **Lipo-Oxygenase** → LT ( LT B4/C4/D4 )

**Ac Arachidonique**

\* **Cyclo-Oxygenase** → PG ( PG E2/ I2 )

## EPREUVES D'IMMUNOLOGIE

### 4 ème ANNEE : 91- 97

- 1/ - **Structure tertiaire et propriétés biologiques des Immunoglobulines** à activité anticorps ; le cas des Immunoglobulines G. ( Ig G. ) ( Oct 91 et 93 )
- 2/ - **Spécificité Antigénique** : caractéristiques et méthodes d'études (07/92)
- 3/ - **Spécificité Antigénique** : définition et mise en évidence (07/93)
- 4/ - Coopération cellulaire pendant la réponse immunitaire à médiation humorale. ( 10 /92 )
- 5/ - Fonctions immunitaires des **Monocytes et Macrophages** ( 10/94 )
- 6/ - Comparer les **réactions humorales primaires et secondaires** (10/94- 07/95)
- 7/ - **Cinétique de la réponse humorale** : donner les implications pratiques (10/96)
- 8/ - Définir les termes suivants : restriction syngénique, agéotopie, séroconversion ° (06/97)
- Décrire les différents aspects de l'immunodiffusion double
  - Donner les implications pratiques de la cinétique de la R. I. de type humorale.
- 9/ - Définir les termes suivants : Histopoe, Homing, Commutation
- **Caractéristiques générales des organes Lymphoïdes** : donner les différences entre les organes lymphoïdes centraux et lymphoïdes périphériques.
  - Principe et Intérêts de la réaction de **fixation du complément** (10/97)

## QUESTIONS IMMUNOLOGIE ANNEES 80

- 1/ - **Les Immunoglobulines A** : Ig.A : structures et propriétés sérologiques ( 9/84-87-91 )
- 2/ - Structure Tertiaire des **Immunoglobulines G** : Ig.G et leurs propriétés biologiques
- 2'/ - **Structure Tertiaire** et PP Biologiques des **Immunoglobulines à activité anticorps** : Cas des Ig.G ( 9/89 )
- 3/ - **Spécificité Antigénique** : définition et mise en évidence ( 6/89 )
- 4/ - Voie classique d'**activation du complément** ( 9/86 - 9/87 - 9/88 )
- 5/ - **Rôle des Lymphocytes T «Helper»** dans le développement des réactions immunitaires à médiation humorale et cellulaire ( 6/88 )
- 6/ - **Coopération cellulaire** au cours de la réponse immunitaire à médiation cellulaire ( 9/85 )
- 7/ - **Interaction cellulaire** au cours de la réponse immunitaire à médiation humorale ( 6/ 85 )

### SUJET D'IMMUNOLOGIE : REpondre par VRAI OU FAUX

- 1/ - L'activation des Granulocytes par l'Ag. requiert la présence de l'IL2 : **Faux**
- 4/ - Les **L.B mémoire** ont une durée de vie plus longue que les LT mémoire : **F**
- 5/ - L'action de **Cyclo-Oxygénase sur l'acide arachidonique aboutit aux PG.** : **F**

**La Rupture du kyste hydatique** est issue de la libération de médiateurs par les Mastocytes Elle est marquée par la présence d'Ig. E qui détermine le choc anaphylactique.

\* A. Kouamé Désiré 06/01\*

**PROGRAMME 4 ème Année PHARMACIE 2004**  
**2 ème Semestre**

	7 h 30 à 9 h	9 h à 10 h 30	10 h 30 à 12 h	14 h 30 à 17 h 30	17h30 à 19 H
<b><u>LUNDI</u></b>	Biochimie	Toxicologie	Toxicologie		
<b><u>MARDI</u></b>		<i>ChimieThéra.</i>	<i>Chimie Théra.</i>	<b>Travaux Pratiques</b>	
<b><u>MERCREDI</u></b>	Biochimie.	Biochimie.	<b>Biotechnologie</b>	<b>Travaux Pratiques</b>	
<b><u>JEUDI</u></b>	Galénique	Immunologie	Immunologie	<b>Travaux Pratiques</b>	
<b><u>VENDREDI</u></b>	Galénique	<i>ChimieThéra.</i>	<i>ChimieThéra.</i>	<b>Travaux Pratiques</b>	
<b><u>SAMEDI</u></b>	<i>Biotechnologie</i>	<i>Biotechno°</i>			
<b><u>DIMANCHE</u></b>					

**LES UNITES DE VALEURS ( UV) EN PHARMACIE**

- UV 41 = Sciences du Médicament 1 : - **Chimie Thérapeutique** - Pharmacologie
- UV 42 = Sciences du Médicament 2 : - Pharmacognosie : Mat Médi - **Galénique**
- UV 43 = Sciences Biologiques 1 : - **Biochimie** - **Immunologie** - Diététique
- UV 44 = Sciences Biologiques 2 :- Parasitologie/Mycologie - Bactériologie/ Virologie
- UV 45 = Sciences Analytiques : - **Toxicologie** - **Biotechnologie Alimentaire**

\* **ENSEIGNEMENTS** : Avril → 30 Juin

\* **REVISION** : 05 → 11 Juillet 2004

\* **EXAMEN ECRIT** : 12 Juillet → 17 Juillet 2004

\* **DELIBERATION** : 1-2 Août

\* **VACANCES** : 3 Août → Octobre

\* **EXAMEN ECRIT 2 ème SESSION** : 07 Octobre 2004 == > 20 Oct. 04

## PROGRAMME TRAVAIL JUIN 2003

1/ Biochimie 2/ Galénique 3/ Immuno 4/ Biotech 5/ Chimie Théra

	<b>MATIN (4 h.)</b>	<b>Après-MIDI(3)</b>	<b>SOIR ( 3 h.)</b>
<b>Dim 01/06/03</b>			
<u>Lundi 02/06</u>		<i>TP Biotech</i>	
Mardi 03 /		<i>TP Biotech</i>	
Mer 04 /		<i>TP Biotech</i>	
Jeudi 05 /		<i>TP Biotech</i>	
Vendredi 06		<i>TP Biotech</i>	
Samedi 07			
<b>Dim 08/06/03</b>			
Lundi 09/05	Pentecote	<i>TP Biotech</i>	
Mardi 10		<i>TP Biotech</i>	
Mer. 11		<i>TP Biotech</i>	
Jeudi 12		<i>TP Biotech</i>	
Vend. 13		<i>TP Biotech</i>	
Sam 14			
<b>Dim 15/06/03</b>			
<u>Lundi 16/06/03</u>		<i>TP Biotech</i>	
Mardi 17/06		<i>TP Biotech</i>	
Mer. 18/06		<i>TP Biotech</i>	
Jeudi 19/06		<i>TP Biotech</i>	
Vend. 20/06		<i>TP Biotech</i>	
Sam 21	Immuno (4)	Immuno (2)	Immuno (2)
<b>Dim 22/06/03</b>	Immuno (3)		
<u>Lundi 23/06/03</u>		<b><i>Exam Biotech</i></b>	
Mardi 24/06			
Mer. 25/06			
Jeudi 26/06			
Vend. 27/06			
Sam 28 / Dim 29			
Lundi 30/06			
<b>BILAN : H.</b>	<b>- Bioch: H</b>	<b>- Galénique :.</b>	<b>- Immuno: H</b>
	<b>- Chimie Théra</b>	<b>-</b>	<b>- Biotech :</b>